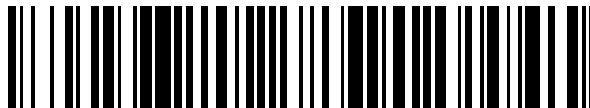


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 630 031**

51 Int. Cl.:

A61K 38/17 (2006.01)

C07K 14/00 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

C07K 14/575 (2006.01)

A61K 38/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.09.2011 PCT/US2011/053774**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.04.2012 WO12050925**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.09.2011 E 11833075 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.03.2017 EP 2621515**

54 Título: **Un polipéptido de leptina pinnípedo-humano quimérico con solubilidad aumentada**

30 Prioridad:

10.12.2010 US 422091 P

28.09.2010 US 387402 P

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

17.08.2017

73 Titular/es:

**AEGERION PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
One Main Street, Suite 800
Cambridge, MA 02142, US**

72 Inventor/es:

ERICKSON, MARY

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 630 031 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

Un polipéptido de leptina pinnípedo-humano quimérico con solubilidad aumentada

5 Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica la prioridad de la solicitud de Estados Unidos n.º 61/387.402 presentada el 28 de septiembre de 2010, y la solicitud de Estados Unidos n.º 61/422.091 presentada el 10 de diciembre de 2010.

10 Antecedentes de la invención

La presente divulgación proporciona novedosos compuestos que han demostrado actividad biológica. Los compuestos demuestran también una mejora sorprendente y significativa en las propiedades físicas, tales como solubilidad y estabilidad.

15 Los compuestos de la divulgación se basan en las secuencias de leptina divulgadas en la solicitud de Estados Unidos n.º 61/387402 y en la solicitud de Estados Unidos n.º 61/422.091. Los compuestos son, de forma sorprendente, muy solubles y no demuestran propensión a formar agregados, a diferencia de las leptinas de tipo silvestre. Las propiedades físicas de los compuestos facilitan la preparación de formulaciones y composiciones
20 solubles, farmacéuticamente aceptables, también proporcionadas por la invención. Las enfermedades susceptibles a dicho tratamiento incluyen lipodistrofia, dislipidemia, hiperlipidemia, sobrepeso, obesidad, amenorrea hipotalámica, enfermedad de Alzheimer, deficiencia de leptina, enfermedad de hígado graso, diabetes (incluyendo tipo I y tipo II), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), enfermedad de hígado graso no alcohólica (NAFLD), síndrome metabólico X, y enfermedad de Huntington, o sus combinaciones.

25 Sigue existiendo la necesidad de desarrollar polipéptidos útiles en las enfermedades, dolencias y trastornos metabólicos anteriores. En consecuencia, Es un objetivo de la presente invención proporcionar novedosos polipéptidos útiles para tratar las anteriores dolencias y métodos para producirlos y utilizarlos.

30 Breve resumen de la invención

Se proporcionan compuestos polipeptídicos quiméricos que tienen actividad biológica de leptinas, además de las propiedades físicas potenciadas. Los compuestos son polipéptidos quiméricos que se basan en un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre en el que al menos una región contigua de 1-30 aminoácidos de una secuencia
35 de leptina de pinnípedo de tipo silvestre se ha sustituido por una región contigua de 1-30 aminoácidos de una secuencia de leptina humana madura y en el que el polipéptido quimérico comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 95 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:32.

40 En un primer aspecto, se proporciona un polipéptido quimérico que se describe en el presente documento.

En otro aspecto, se proporciona el uso del polipéptido quimérico de la invención en un método para tratar una enfermedad o un trastorno en un sujeto que necesita el tratamiento. El método incluye administrar un polipéptido que se describe en el presente documento al sujeto.

45 En otro aspecto más, se proporciona una composición farmacéutica que incluye un polipéptido quimérico de la invención junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Se describen además en el presente documento polinucleótidos que codifican el polipéptido quimérico y sus compuestos intermedios, vectores de expresión que transportan dichos polinucleótidos, células hospedadoras que expresan dichos polinucleótidos, y los medios para su expresión, síntesis, modificación posterior a la traducción y
50 aislamiento.

Breve descripción de los dibujos

55 Las Figs. 1A-1C representan gráficamente los efectos de la administración diaria de los polipéptidos quiméricos indicados descritos en el presente documento sobre la captación de alimento y el cambio en el peso corporal (% de vehículo corregido) tras su administración a ratones C57/B6 hembra como se describe en el Ejemplo 4. Figura 1A; captación de alimento. Figura 1B: cambio en el peso corporal (% corregido para el vehículo). Figura 1C: curva de respuesta a la dosis.

60 Las Figs. 2A-2C representan gráficamente los efectos de la administración diaria de los polipéptidos quiméricos indicados descritos en el presente documento sobre la captación de alimento y el cambio en el peso corporal (% de vehículo corregido) tras su administración a ratones C57/B6 hembra como se describe en el Ejemplo 5. Figura 2A; captación de alimento. Figura 2B: cambio en el peso corporal (% corregido para el vehículo). Figura 2C: curva de respuesta a la dosis.
65

Descripción detallada de la invención

I. Definiciones

- 5 "Obesidad" y "sobrepeso" se refieren a mamíferos que tienen un peso mayor que el normalmente esperado, y se puede determinar mediante, por ejemplo, aspecto físico, índice de masa corporal (IMC) como se conoce en la materia, relación entre el perímetro de la cintura y la cadera, espesor del pliegue cutáneo, perímetro de la cintura, y similares. Los Centros para el control y prevención de enfermedades (CDC) definen el sobrepeso como un adulto humano que tiene un IMC de 25 a 29,9; y definen obeso como un adulto humano que tiene un IMC de 30 o mayor.
- 10 Existen métricas adicionales para la determinación de la obesidad. Por ejemplo, los CDC indican que una persona con una relación entre el perímetro de la cintura y la cadera mayor de 1,0 tiene sobrepeso.

- "Masa corporal magra" se refiere a la masa exenta de grasa del cuerpo, es decir, el peso corporal total menos el peso de la grasa corporal es la masa corporal magra. La masa corporal magra puede medirse por métodos tales como el pesaje hidrostático, cámaras informatizadas, absorciometría de rayos X de doble energía, calibradores del pliegue de la piel, formación de imágenes de resonancia magnética (IRM) y análisis de impedancia bioeléctrica (AIB) como se conoce en la materia.
- 15

- "Mamífero" se refiere a animales de sangre caliente que tienen generalmente pelaje o piel, que dan a luz a su progenie, y que alimentan a su progenie con leche. Los mamíferos incluyen seres humanos; animales de compañía (por ejemplo, perros, gatos); animales de granja (por ejemplo, vacas, caballos, ovejas, cerdos, cabras); animales salvajes; y similares. En una realización, el mamífero es una hembra. En una realización, el mamífero es una hembra humana. En una realización, el mamífero es un gato o un perro. En una realización, el mamífero es un mamífero diabético, por ejemplo, un ser humano que tiene diabetes de tipo 2. En una realización, el mamífero es un mamífero diabético obeso, por ejemplo, un mamífero obeso que tiene diabetes de tipo 2. El término "sujeto" en el contexto de los métodos descritos en el presente documento se refiere a un mamífero.
- 20
- 25

- "Fragmento", en el contexto de los polipéptidos se refiere en el presente documento en el sentido de sustancia química de uso habitual a una porción de un polipéptido. Por ejemplo, un fragmento puede ser el resultado de una deleción en el extremo N o una deleción en el extremo C de uno o más restos de un polipéptido precursor, y/o un fragmento puede ser el resultado de una deleción interna de uno o más restos de un polipéptido precursor.
- 30 "Fragmento", en el contexto de un anticuerpo se refiere a una porción de un anticuerpo que se puede unir a una molécula biológicamente activa para modular la solubilidad, la distribución en un sujeto, y similares. Por ejemplo, la leptina A200 descrita en el presente documento es un conjugado de un fragmento de anticuerpo Fc con una leptina, como se conoce en la materia. Véanse, por ejemplo, los documentos WO 98/28427 y US2007/002084. El término "precursor", en el contexto de los polipéptidos se refiere, en el sentido de uso habitual, a un polipéptido que sirve como una estructura de referencia antes de la modificación, por ejemplo, inserción, deleción y/o sustitución.
- 35

- "Análogo", como se usa en el presente documento en el contexto de los polipéptidos se refiere a un compuesto que tiene inserciones, deleciones y/o sustituciones de aminoácidos con respecto a un compuesto precursor. Un análogo puede tener una estabilidad, solubilidad, eficacia, semivida, y similares. Por ejemplo, un análogo puede ser un compuesto que tiene al menos un 50 %, tal como un 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 %, o incluso mayor, identidad de secuencia con el compuesto precursor.
- 40

- "Identidad", "identidad de secuencia" y similares en el contexto de comparar dos o más ácidos nucleicos o secuencias de polipéptidos, se refiere a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales o tienen un porcentaje especificado de restos de aminoácidos o nucleótidos que son iguales (es decir, aproximadamente un 50 % de identidad, preferentemente 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o una identidad mayor en una región especificada, cuando se compara y alinean para obtener una correspondencia máxima sobre una ventana de comparación o una región designada) como se mide utilizando algoritmos de comparación de secuencias como se conoce en la materia, por ejemplo BLAST o BLAST 2.0. Esta definición incluye secuencias que tienen deleciones y/o adiciones, así como aquellas que tienen sustituciones, así como las que se producen naturalmente, por ejemplo, las variantes polimórficas o alélicas, y las variantes de fabricación humana. En los algoritmos preferidos, se tienen en cuenta los espacios y similares, como se conoce en la materia. Para la comparación de la secuencia, normalmente una secuencia actúa como una secuencia de referencia, con la cual se comparan las secuencias de prueba. Cuando se utiliza un algoritmo de comparación de secuencias, las secuencias de prueba y de referencia se introducen en un ordenador, se designan coordenadas posteriores si es necesario, y se designan los parámetros del programa del algoritmo de secuencias. Preferentemente, se pueden usar los parámetros preconfigurados del programa, o se pueden designar parámetros alternativos. El algoritmo de comparación de secuencias calcula a continuación el porcentaje de identidades de secuencia de las secuencias de prueba con respecto a la secuencia de referencia, basándose en los parámetros del programa. Se puede llevar a cabo la alineación óptima de las secuencias para comparación, por ejemplo, mediante el algoritmo de homología local de Smith y Waterman, 1981, Adv. Appl. Math. 2:482, mediante el algoritmo de alineación de homología de Needleman y Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48:443, mediante la búsqueda del método de similitud de Pearson y Lipman, 1988, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444, mediante implementaciones informatizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA, y TFASTA del Wisconsin Genetics Software Package,
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.), o mediante alineación manual e inspección visual. Véase, por ejemplo, Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel et al., eds. suplemento de 1995)). Los ejemplos preferidos de algoritmos que son adecuados para determinar el porcentaje de identidad de la secuencia y la similitud de la secuencia incluyen los algoritmos BLAST y BLAST 2.0, que se describen en Altschul et al., 1977, Nuci. Acids Res. 25:3389-3402 y Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215:403-410. Se usan BLAST y BLAST 2.0, como se conoce en la materia, para determinar el porcentaje de identidad de la secuencia de los ácidos nucleicos y proteínas de la divulgación. El software para llevar a cabo los análisis BLAST está públicamente disponible del National Centre for Biotechnology Information. Este algoritmo implica identificar en primer lugar parejas de secuencias de alta puntuación (HSP) identificando palabras cortas de longitud W en la secuencia de consulta que, o bien se empareja o bien satisface algún valor umbral de valor positivo T cuando se alinea con una palabra de la misma longitud en la secuencia de la base de datos. T se denomina el umbral de puntuación de palabras adyacentes (Altschul et al, *Id.*). Estos aciertos iniciales de palabras adyacentes actúan como semillas para iniciar búsquedas para encontrar los HSP más largos que las contienen. Los aciertos de palabras se extienden en ambas direcciones a lo largo de cada secuencia para que se pueda aumentar de forma coherente la puntuación de la alineación acumulativa. Se calculan las puntuaciones acumulativas utilizando, por ejemplo, para las secuencias de nucleótidos, los parámetros M (puntuación de recompensa para una pareja de restos de emparejamiento; siempre >0) y N (puntuación de penalización para restos emparejados incorrectamente; siempre <0). Para las secuencias de aminoácidos, se usa una matriz de puntuación para calcular la puntuación acumulativa. La extensión de los aciertos de palabras en cada dirección se detiene cuando: la puntuación de la alineación acumulativa disminuye en una cantidad X de su valor máximo conseguido; la puntuación acumulativa llega a un valor de cero o inferior, debido a la acumulación de una o más alineaciones de restos con puntuación negativa; o se alcanza el extremo de cualquier secuencia. Los parámetros W del algoritmo BLAST, T, y X determinan la sensibilidad y la velocidad de la alineación. El programa BLASTN (para secuencias de nucleótidos) utiliza por defecto una longitud de palabra (W) de 11, una expectativa (E) de 10, M=5, N=-4 y una comparación de ambas cepas. Para las secuencias de aminoácidos, el programa BLASTP utiliza por defecto una longitud de palabra de 3, y una expectativa (E) de 10, y la matriz de puntuación BLOSUM62 (véase Henikoff y Henikoff, 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915) alineaciones (B) de 50, expectativa (E) de 10, M=5, N=-4, y una comparación de ambas hebras.

El término "aproximadamente" en el contexto de un valor numérico se refiere a +/- 10 % del valor numérico, a no ser que se indique expresamente de otra forma.

Los términos "péptido" y "polipéptido" en el contexto de los compuestos descritos en el presente documento son sinónimos.

Leptinas. "Leptinas" y "una leptina" significan: leptinas, fragmentos activos de leptinas, análogos de leptinas, y derivados de leptinas; y una leptina, un fragmento activo de leptina, un análogo de leptina, y un derivado de leptina; respectivamente. En consecuencia, a menos que se indique de otra manera, se entiende que la referencia a "leptinas" abarca leptinas, fragmentos activos de leptinas, análogos de leptinas, y derivados de leptina, como se divulga en el presente documento. De manera similar, a menos que se indique de otra manera, se entiende que la referencia a "una leptina" abarca una leptina, un fragmento activo de leptina, un análogo de leptina, y un derivado de leptina, como se divulga en el presente documento. Las leptinas ilustrativas que se pueden emplear en el diseño, la preparación, y el uso de polipéptidos quiméricos divulgados en el presente documento incluyen aquellos que estimulan una o más respuestas biológicas conocidas en la materia que se van a estimular cuando se administran leptinas a los sujetos (véase, por ejemplo, las solicitudes de patente de Estados Unidos publicadas con números US 2007/0020284 y US 2008/0207512, las patentes de Estados Unidos con números 6.309.853, y US 7.183.254, y las solicitudes PCT publicadas con números WO 96/005309, WO 98/28427, y WO 2009/064298), tales como: reducción de la captación de alimentos, reducción del peso corporal, reducción de la ganancia de peso corporal, inducción de la saciedad, reducción de la disponibilidad calórica, reducción de la eficacia calórica, reducción de la meseta metabólica, aumento de la sensibilidad a la insulina, reducción de la hiperlipidemia, corrección de la dislipidemia, reducción de la hipertrigliceridemia, mejora de la obesidad, mejora del sobrepeso, mejora de la diabetes mellitus (incluyendo la diabetes de tipo I, diabetes de tipo II, y diabetes gestacional), mejora de la resistencia a la insulina, mejora de las dolencias de lipodistrofia asociadas a las anteriores, así como otras respuestas biológicas conocidas en la materia que se van a estimular tras la administración de una leptina (véase, por ejemplo, las solicitudes de patentes de Estados Unidos publicadas con números US 2007/0020284 y US 2008/0207512, las patentes de Estados Unidos con números 6.309.853, y US 7.183.254, y las solicitudes PCT publicadas con números WO 96/005309, WO 98/28427, y el documento WO 2009/064298).

Las leptinas incluyen, aunque no de forma limitativa, los compuestos descritos en las patentes de Estados Unidos con números US 5.594.101, US 5.851.995, US 5.691.309, US 5.580.954, US 5.554.727, US 5.552.523, US 5.559.208, US 5.756.461, US 6.309.853, las solicitudes de patentes de Estados Unidos publicadas con número US 2007/0020284, y las solicitudes PCT publicadas con números WO 96/23517, WO 96/005309, WO 98/28427, WO 2004/039832, WO 98/55139, WO 98/12224, y WO 97/02004. Los métodos para evaluar las actividades de la leptina y respuestas biológicas in vitro e in vivo, incluyendo la saciedad, la actividad de inhibición de la captación de alimento y la actividad de pérdida de peso, se conocen en la materia y se describen en el presente documento y también en las anteriores referencias y otras referencias enumeradas en el presente documento.

Leptinas representativas, análogos de leptinas, fragmentos activos de leptinas, y derivados de leptinas que incluyen los siguientes:

Leptinas de murino maduras:

5 VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHT-Xaa-SVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLA
 VYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKKSCHLPQASGLETLES LGGVLEASGY
 STEVVALSRLQGSLQDMLQQDLSPGC, donde Xaa en la posición 28 es Q o está ausente
 (SEQ ID NO: 1)

Leptina de murino madura forma 1:

10 VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSAKQRVTGLDFIPGLHPILSLSKMDQTLAVY
 QQVLTSLPSQNVLQIANDLENLRDLLHLLAFSKSCSLPQTSGLQKPESLDGVLEASLYST
 EVVALSRLQGSLQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO:2).

Leptina de murino madura forma 2:

15 VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTSVSAKQRVTGLDFIPGLHPILSLSKMDQTLAVYQ
 QVLTSLPSQNVLQIANDLENLRDLLHLLAFSKSCSLPQTSGLQKPESLDGVLEASLYSTE
 VVALSRLQGSLQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO:3).

Leptinas de murino maduras con metionina en el extremo N:

20 MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHT-Xaa-SVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTL
 AVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKKSCHLPQASGLETLES LGGVLEASG
 YSTEVVALSRLQGSLQDMLQQDLSPGC, donde Xaa en la posición 29 es Q o está ausente
 (SEQ ID NO: 4)

Leptina de murino madura, forma 1, con metionina en el extremo N:

25 MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSAKQRVTGLDFIPGLHPILSLSKMDQTLAV
 YQQVLTSLPSQNVLQIANDLENLRDLLHLLAFSKSCSLPQTSGLQKPESLDGVLEASLYS
 TEVVALSRLQGSLQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO:5).

Leptina de murino madura, forma 2, con metionina en el extremo N:

30 MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTSVSAKQRVTGLDFIPGLHPILSLSKMDQTLAVY
 QQVLTSLPSQNVLQIANDLENLRDLLHLLAFSKSCSLPQTSGLQKPESLDGVLEASLYST
 EVVALSRLQGSLQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO:6).

Leptina de porcino madura:

35 VPIWRVQDDTKTLIKTIVTRISDISHMQSVSSKQRVTGLDFIPGLHPVLSLSKMDQTLAIY
 QQILTSLPSRNVIQISNDLENLRDLLHLLASSKSCPLPQARALETLES LGGVLEASLYSTE
 VALSRLQGALQDMLRQLDLSPGC (SEQ ID NO:7).

Leptina de porcino madura con metionina en el extremo N:

MVPIWRVQDDTKTLIKTIVTRISDISHMQSVSSKQRTGLDFIPGLHPVLSLSKMDQTLAI
 YQQILTSLPSRNVIQISNDLENLRDLLHLLASSKSCPLPQARALETLES LGGVLEASLYSTE
 VVALSRLQGALQDMLRQLDLSPGC (SEQ ID NO:8).

5 **Leptinas de bovino maduras:** VPICKVQDDTKTLIKTIVTR1NDISHT-Xaa-
 SVSSKQRTGLDFIPGLHPLLSLSKMDQTLAIYQQILTSLPSRNVVQISNDLENLRDLLHLLAASKSCPLPQVRALES
 LESLGVVLEASLYSTEVALSRLQGSLQD MLRQLDLSPGC, en la que Xaa en la posición 28 es Q o está
 ausente (SEQ ID NO:9).

10 **Leptinas de bovino maduras con metionina en el extremo N:** MVPICKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHT-Xaa-
 SVSSKQRTGLDFIPGLHPLLSLSKMDQTLAIYQQILTSLPSRNVVQISNDLENLRDLLHLLAASKSCPLPQVRALES
 LESLGVVLEASLY STEVVALSRLQGSLQD MLRQLDLSPGC, en la que Xaa en la posición 29 es Q o está
 ausente (SEQ ID NO:10).

15 **Leptina humana de longitud completa sin procesar (es decir, incluye 21 restos de la secuencia señal del
 extremo N):**
 MHWGTLGFLWLWPYLFYVQAVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTG
 LDFIPGLHPILTLSKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPL
 WASGLETLDLGGVLEASGY STEVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:
 11)

20 **Leptinas humanas maduras (con una secuencia señal de 21 aminoácidos en el extremo N eliminada):**
 VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISH-Xaa-Xaa-
 SVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPLWASGLE
 TLDLGGVLEAS GYSTEVALSRLQGSLQD MLWQLDLSPGC, en la que: Xaa en la posición 27 es T o A; y Xaa
 en la posición 28 es Q o está ausente (SEQ ID NO:12).

25 **Leptinas humanas maduras con metionina en el extremo N:**
 MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISH-Xaa-Xaa-SVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQ
 TLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPLWASGLETLDLGGVLEA
 SGYSTEVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC, donde Xaa en la posición 28 es T o A y Xaa en la
 posición 29 es Q o está ausente (SEQ ID NO: 13)

30 **Leptina de Rhesus madura:**
 VPIQKVQSDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQRTGLDFIPGLHPVLTLSQMDQTLAIYQ
 QILINLPSRNVIQISNDLENLRDLLHLLAFSkschLPLASGLETLES LGDVLEASLYSTE
 VALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:14).

35 **Leptina de Rhesus madura con metionina en el extremo N:**
 MVPIQKVQSDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQRTGLDFIPGLHPVLTLSQMDQTLAI
 YQQILINLPSRNVIQISNDLENLRDLLHLLAFSkschLPLASGLETLES LGDVLEASLYSTE
 VVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:15).

Leptina de rata madura:

VPIHKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSARQRVTGLDFIPGLHPILSLSKMDQTLAVY
QQILTSPLSQNVLQIAHDLENLRDLLHLLAFSKSCSLPQTRGLQKPESLDGVLEASLYSTE
VVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO:16).

Leptina de rata madura con metionina en el extremo N: Leptina de Platypus madura: Sigue la secuencia de la leptina de platypus madura:

5 ISIEKIQADTKTLTKTIITRIIQLSTQNGVSTDQRVSGLDFIPGNQQFQNLADMDQTLAVYQ
QILSSLPMPDRTQISNDLENLRSLFALLATLKNCPFTRSDGLDTMEIWGGIVEESLYSTEV
VTLDRLRKSLKNIEKQLDHIQG (SEQ ID NO:18).

Leptina de platypus de longitud completa sin procesar (es decir, incluye 21 restos de una secuencia señal en el extremo N): Una secuencia de longitud completa de leptina de platypus, que incluye 21 restos de la secuencia señal del extremo N):

10 MRCILLYGFLCVWQHLYYSHPISEKIQADTKTLTKTIITRIIQLSTQNGVSTDQRVSGLDF
IPGNQQFQNLADMDQTLAVYQQILSSLPMPDRTQISNDLENLRSLFALLATLKNCPFTRS
DGLDTMEIWGGIVEESLYSTEVVTLDRLRKSLKNIEKQLDHIQG (SEQ ID NO:19).

Leptina humana madura forma 1:

15 VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVY
QQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPWASGLETLDLGGVLEASGYST
EVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:20).

Leptina humana madura forma 2:

20 VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHAQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVY
QQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPWASGLETLDLGGVLEASGYST
EVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:21).

Leptina humana madura forma 3:

25 VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVYQ
QILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTE
VVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:22).

Leptina humana madura forma 4:

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHASVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVYQ
QILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTE
VVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:23).

30 **Leptina humana madura forma 1 con metionina en el extremo N (conocida también como Metreleptina, o A100):**

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPWASGLETLD SLGGVLEASGYS
TEVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:24).

Leptina humana madura forma 2 con metionina en el extremo N:

5 MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHAQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPWASGLETLD SLGGVLEASGYS
TEVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:25).

Leptina humana madura forma 3 con metionina en el extremo N:

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAVY
QQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPWASGLETLD SLGGVLEASGYST
10 EVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:26).

Leptina humana madura forma 4 con metionina en el extremo N:

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHASVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAVY
QQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPWASGLETLD SLGGVLEASGYST
15 EVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:27).

Leptina de pinnípedo:

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTL SGMDQILATYQQ
ILTSLQSR SVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCP VPRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEV
20 VALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:28).

Leptina de pinnípedo con los aminoácidos 71-92 sustituidos por los aminoácidos 73-94 (hélice 3) de metreleptina, respectivamente:

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTL SGMDQILATYQQ
ILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEVV
25 ALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:29).

Leptina de pinnípedo con los aminoácidos 30 y 71-92 sustituidos con los aminoácidos 32 y 73-94 (hélice 3) de metreleptina, respectivamente:

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTL SGMDQILATYQQI
LTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEVV
30 ALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:30).

Leptina de pinnípedo con metionina en el extremo N: Leptina de pinnípedo con metionina en el extremo N, y con los aminoácidos 71-92 sustituidos por los aminoácidos 73-94 (hélice 3) de metreleptina, respectivamente: Leptina de pinnípedo con metionina en el extremo N, y con los aminoácidos 30 y 71-92 sustituidos con los aminoácidos 32 y 73-94 (hélice 3) de metreleptina, respectivamente:

35

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ
 QILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPARRGSDTIKGLGNVLRASVHSTEV
 VALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:33).

5 **Leptina A200:** La leptina A200 es un producto de condensación del fragmento de anticuerpo Fc con leptina, como se conoce en la materia. Véase, por ejemplo, Lo et al., 2005, Protein Eng. Design & Selection, 18:1-10. La secuencia de aminoácidos de A200 es la siguiente:

MDKTHTCPPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
 VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
 SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP
 PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKVPQKQV
 QDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVYQQILTS
 MPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTEVVALS
 RLQGSQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:34)

10 **Leptina A300:** Leptina A300 es metreleptina con las sustituciones W101Q y W139Q (1^o Met en el extremo N contada como resto 1):

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAV
 YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHLPQASGLETLDLGGVLEASGYS
 TEVVALSRLQGSQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:35).

15 **Leptina A400:** Leptina A400 es metreleptina con el resto serina en la posición 78 sustituido con un resto cisteína, como se muestra a continuación:

TEVVALSRLQGSQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO: 36);

20 al cual se puede unir un resto de PEG de 20 kilodalton (kDa) mediante el resto de cisteína en la posición 78.

25 **Leptina A500:** La investigación de numerosos investigadores, incluyendo los inventores se ha centrado en los efectos sobre la agregación de restos de sustitución en leptina. Véase, por ejemplo, Ricci et al., 2006. "Mutational approach to improve physical stability of protein therapeutics susceptible to aggregation: Role of altered conformation in irreversible precipitation," Capítulo de libro. En: MISBEHAVING PROTEINS: PROTEIN (MIS)FOLDING, AGGREGATION, AND STABILITY, Murphy RM, Tsai AM, Eds., Nueva York. Springer. págs. 331-350. En consecuencia, se ha utilizado a continuación la leptina A500 con secuencia en determinados compuestos y métodos descritos en el presente documento:

30 MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMDQTLAV
 YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHLPQASGLETLESIGGVLEASGYST
 EVVALSRLQGSQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:37).

Variantes de Leptina A100: Siguen las variantes de Leptina A100 con las siguientes sustituciones de aminoácidos:

35 D41E, H98S, W101Q, D109E, G113E, M137I, W139Q y G146E:

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMDQTLAV
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCSLPQASGLETLESLGEVLEASGYST
EVVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 38).

H98S, W101Q, A102T, G113E, M137I, W139Q, y G146E:

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAV
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCSLPQASGLETLDLGGVLEASGYST
EVVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 39).

5

H98S, W101Q, G113E, M137I, W139Q, y G146E:

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAV
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCSLPQASGLETLDLGEVLEASGYST
EVVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 40).

10

W101Q, G113E, M137I, W139Q, y G146E:

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAV
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHLPQASGLETLDLGEVLEASGYST
EVVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 41).

15

H98S, W101Q, M137I, W139Q, y G146E: W101Q, G113E, M137I, W139Q, L143V, y G146E:

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAV
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHLPQASGLETLDLGEVLEASGYST
EVVALSRLQGSLQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO: 43).

H98S, W101Q, A102T, M137I, W139Q, y G146E:

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAV
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCSLPQTSGLLETLDLGGVLEASGYST
EVVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 44).

20

H98S, W101Q, D109E, G113E, y G146E:

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAV
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCSLPQASGLETLESLGEVLEASGYST
EVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPEC (SEQ ID NO: 45).

25

W101Q, M137I, W139Q, y G146E:

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAV
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHLPQASGLETLDLGGVLEASGYS
TEVVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 46).

30

W101Q, M137I, W139Q, L143V, y G146E:

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
 YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPQASGLETLD SLGGVLEASGYS
 TEVVALSRLQGSLQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO: 47).

H98S, W101Q, A102T, M1371, W139Q, L143V, y G146E:

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
 YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCSLPQTSGLETLD SLGGVLEASGYST
 5 EVVALSRLQGSLQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO: 48).

H98S, W101Q, A102T, G113E, y G146E:

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
 YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCSLPQTSGLETLD SLGEVLEASGYST
 10 EVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPEC (SEQ ID NO: 49).

W101Q, G113E, y W139Q:

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
 YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPQASGLETLD SLGEVLEASGYST
 15 EVVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGC (SEQ ID NO: 50).

W101Q, G113E, W139Q, y G146E:

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
 YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPQASGLETLD SLGEVLEASGYST
 20 EVVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 51).

II. Polipéptidos quiméricos

20 En un aspecto de la presente divulgación, se describe una serie de polipéptidos quiméricos. Estos polipéptidos quiméricos se basan en un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre en el que al menos una región contigua de 1-30 aminoácidos de una secuencia de leptina de pinnípedo de tipo silvestre se ha sustituido con una región contigua de 1-30 aminoácidos de una secuencia de leptina humana madura. Una secuencia de leptina de pinnípedo de tipo silvestre incluye la secuencia de la leptina de pinnípedo de tipo silvestre (SEQ ID NO:28) y la secuencia de leptina de tipo silvestre con una metionina en el extremo N (SEQ ID NO:31). Una secuencia de leptina humana madura, útil para quimerizar la leptina de pinnípedo de tipo silvestre que se proporciona en el presente documento, incluye las siguientes secuencias descritas anteriormente: leptinas humanas maduras (SEQ ID NO:12), leptinas humanas maduras con metionina en el extremo N (SEQ ID NO:13), leptina humana madura forma 1 (SEQ ID NO: 20), leptina humana madura forma 2 (SEQ ID NO: 21), leptina humana madura forma 3 (SEQ ID NO: 22), leptina humana madura forma 4 (SEQ ID NO: 23), leptina humana madura forma 1 con metionina en el extremo N (Metreleptina, o A100, SEQ ID NO:24), leptina humana madura forma 2 con metionina en el extremo N (SEQ ID NO:25), leptina humana madura forma 3 con metionina en el extremo N (SEQ ID NO:26), leptina humana madura forma 4 con metionina en el extremo N (SEQ ID NO:27), A200 (SEQ ID NO:34), A300 (SEQ ID NO:35), A400 (SEQ ID NO:36), A500 (SEQ ID NO:37), y variantes de A100 (SEQ ID NO:38-51). En algunas realizaciones, se describen en el presente documento una serie de polipéptidos quiméricos en los que se ha sustituido al menos una región contigua de 1-30 aminoácidos de una secuencia de leptina de pinnípedo de tipo silvestre (SEQ ID NO. 28 o SEQ ID NO:31) por una región contigua de 1-30 aminoácidos de A100 (SEQ ID NO. 24).

40 En cualquiera de los polipéptidos anteriormente divulgados, una región contigua de 1-30 aminoácidos puede comprender cualquier aminoácido que se produce naturalmente o de forma no de tipo silvestre. Se puede emplear sin restricción cualquier combinación de aminoácidos. Es decir, se pueden sustituir dos o más aminoácidos en una región contigua con un aminoácido de origen natural, un aminoácido que no se produce de forma natural, una sustitución conservativa, una sustitución no conservativa o cualquiera de sus combinaciones.

Los polipéptidos quiméricos descritos en el presente documento han demostrado actividad biológica, además de las propiedades físicas potenciadas. Por ejemplo, los polipéptidos quiméricos de pinnípedo-ser humano muestran actividad leptina in vitro e in vivo. Los polipéptidos quiméricos muestran también una estabilidad y solubilidad potenciadas en comparación con los polipéptidos de leptina humana madura que se usan para derivar las secuencias, como se muestra en los Ejemplos.

El término "actividad de leptina" incluye la actividad de unión a la leptina y la actividad funcional de la leptina. El técnico experto reconocerá compuestos análogos de leptina con actividad leptina que utilizan ensayos adecuados para medir la unión a la leptina o la actividad funcional de la leptina. Los compuestos análogos de leptina pueden tener una CI50 de aproximadamente 200 nM o menos, aproximadamente 100 nM o menos, o aproximadamente 50 nM o menos, o aproximadamente 5 nM o menos, o aproximadamente 1 nM o menos, en un ensayo de unión a leptina, tal como se describe en el presente documento. El término "CI50" se refiere en el sentido de uso habitual a la concentración inhibitoria semimáxima de un compuesto que inhibe una función biológica o bioquímica. En consecuencia, en el contexto de los estudios de unión al receptor, la CI50 se refiere a la concentración de un compuesto de ensayo que compite por la mitad de un ligando conocido de un receptor especificado. Los compuestos análogos de leptina pueden tener una CE50 de aproximadamente 20 nM o menos, aproximadamente 10 nM o menos, aproximadamente 5 nM o menos, aproximadamente 1 nM o menos, o aproximadamente 0,1 nM o menos, en un ensayo funcional de leptina, tal como se describe en el presente documento. El término "CE50" se refiere en el sentido de uso habitual a la concentración eficaz de un compuesto que induce una respuesta a medio camino entre la respuesta de un valor inicial y una respuesta máxima, como se conoce en la materia. A. Polipéptidos quiméricos que incorporan la hélice 1 humana

La región de la hélice 1 de un polipéptido de leptina humana madura se extiende a una región contigua de 20 aminoácidos. La hélice 1 y la hélice 3 son hélices antiparalelas que forman parte del sitio de unión II de la leptina a su receptor. Este sitio interactúa con el dominio de homología del receptor de la citoquina (CRH) del receptor de la leptina y se cree que es el sitio de unión al receptor mayor, pero que no está implicado en la activación del receptor. Véanse, por ejemplo, Peelman et al., 2004, J. Biol. Chem. 279: 41038.

En un aspecto, la presente divulgación se refiere a polipéptidos quiméricos que se basan en la leptina de pinnípedo de tipo silvestre con una secuencia de hélice 1 incorporada de la leptina humana madura. Por ejemplo, el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre (SEQ ID NO:28), en el que la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 3-22 de la SEQ ID NO:28 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 5-24 de A100 (SEQ ID NO:24). Específicamente, el polipéptido quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:52:

Leptina de pinnípedo con los aminoácidos 3-22 sustituidos con los aminoácidos 5-24 (hélice 1) de metreleptina, respectivamente:

PIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ
 QILTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTE
 VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:52).

Por ejemplo, el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre con una metionina en el extremo N (SEQ ID NO:31), en el que la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 3-22 de la SEQ ID NO:31 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 5-24 de A100 (SEQ ID NO:24). Específicamente, el polipéptido quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:53:

Leptina de pinnípedo con metionina en el extremo N, y con los aminoácidos 3-22 sustituidos con los aminoácidos 5-24 (hélice 1) de metreleptina, respectivamente:

MPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATY
 QQILTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHST
 EVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:53).

B. Polipéptidos quiméricos que incorporan la hélice 2 humana

La región de la hélice 2 de un polipéptido de leptina humana madura se extiende a una región de 16 aminoácidos contiguos. Esta hélice se entierra en el haz de la hélice 4 como se describe en el artículo de la estructura cristalina original de Zhang et al. (Nature 1997 387:206).

En un aspecto, la presente divulgación se refiere a polipéptidos quiméricos que se basan en la leptina de pinnípedo de tipo silvestre con una secuencia de hélice 2 incorporada de la leptina humana madura. Por ejemplo, el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre (SEQ ID NO:28), en el que la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 50-65 de la SEQ ID NO:28 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 52-67 de A100 (SEQ ID NO:24). Específicamente, el polipéptido quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:54:

10 **Leptina de pinnípedo con los aminoácidos 50-65 sustituidos con los aminoácidos 52-67 (hélice 2) de metreleptina, respectivamente:**

Por ejemplo, el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre con una metionina en el extremo N (SEQ ID NO:31), en el que la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 50-65 de la SEQ ID NO:31 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 52-67 de A100 (SEQ ID NO:24). Específicamente, el polipéptido quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:55:

20 **Leptina de pinnípedo con metionina en el extremo N, y con los aminoácidos 50-65 sustituidos con los aminoácidos 52-67 (hélice 2) de metreleptina, respectivamente:**

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLKMDQTLAVY
 QQILTSLQSRVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHST
 EVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:55).

25 C. Polipéptidos quiméricos que incorporan la hélice 3 humana

La región de la hélice 3 de un polipéptido de leptina humana madura se extiende a una región contigua de 22 aminoácidos. La hélice 3 y la hélice 1 son hélices antiparalelas que forman parte del sitio de unión II de la leptina a su receptor. Este sitio interactúa con el dominio de homología del receptor de la citoquina (CRH) del receptor de la leptina y se cree que es el sitio de unión al receptor mayor, pero que no está implicado en la activación del receptor. Véanse, por ejemplo, Peelman et al., 2004, J. Biol. Chem. 279: 41038.

En un aspecto, la presente divulgación se refiere a polipéptidos quiméricos que se basan en la leptina de pinnípedo de tipo silvestre con una secuencia de hélice 3 incorporada de la leptina humana madura. En algunas realizaciones, un polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre (SEQ ID NO:28), en el que la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 71-92 de la SEQ ID NO:28 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 73-94 de A100 (SEQ ID NO:24). En algunas realizaciones, un polipéptido quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:29:

40 **Leptina de pinnípedo con los aminoácidos 71-92 sustituidos con los aminoácidos 73-94 (hélice 3) de metreleptina, respectivamente:**

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLKSGMDQILATYQQ
 ILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEVV
 ALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:29).

En algunas realizaciones, un polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre con una metionina en el extremo N (SEQ ID NO:31), en el que la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 71-92 de la SEQ ID NO:31 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 73-94 de A100 (SEQ ID NO:24). En algunas realizaciones, un polipéptido quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:32:

50 **Leptina de pinnípedo con metionina en el extremo N, y con los aminoácidos 71-92 sustituidos con los aminoácidos 73-94 (hélice 3) de metreleptina, respectivamente:**

MPIQRVQDDTKTLIKTITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ
 QILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEV
 VALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:32).

D. Polipéptidos quiméricos que incorporan la hélice 4 humana

5 La región de la hélice 4 de un polipéptido de leptina humana madura se extiende a una región contigua de 22 aminoácidos. Se cree que la hélice 4 forma parte del sitio I de unión y del sitio III de unión a leptina, ambos cuales son importantes para la activación del receptor. Véanse, por ejemplo, Peelman et al., 2004, J. Biol. Chem. 279: 41038.

10 En un aspecto, la presente divulgación se refiere a polipéptidos quiméricos que se basan en la leptina de pinnípedo de tipo silvestre con una secuencia de hélice 4 incorporada de la leptina humana madura. Por ejemplo, el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre (SEQ ID NO:28), en el que la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 120-141 de la SEQ ID NO:28 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 122-143 de A100 (SEQ ID NO:24). Específicamente, el polipéptido quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:56:

Leptina de pinnípedo con los aminoácidos 120-141 sustituidos por los aminoácidos 122-143 (hélice 4) de metreleptina, respectivamente:

20 PIQRVQDDTKTLIKTITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQ
 ILTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEV
 VALSRLQGSLSQDMLWQLDLNPGC (SEQ ID NO:56).

Por ejemplo, el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre con una metionina en el extremo N (SEQ ID NO:31), en el que la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 120-141 de la SEQ ID NO:31 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 122-143 de A100 (SEQ ID NO:24). Específicamente, el polipéptido quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:57:

30 **Leptina de pinnípedo con metionina en el extremo N, y con los aminoácidos 120-141 sustituidos con los aminoácidos 122-143 (hélice 4) de metreleptina, respectivamente:**

MPIQRVQDDTKTLIKTITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ
 QILTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTE
 VVALSRLQGSLSQDMLWQLDLNPGC (SEQ ID NO:57).

E. Polipéptidos quiméricos que incorporan el bucle AB humano

35 La región del bucle AB de un polipéptido de leptina humana madura se extiende a una región contigua de 27 aminoácidos. Se piensa que el bucle AB forma parte del sitio III de unión, así como una pequeña porción del sitio I de unión a leptina. Véanse, por ejemplo, Peelman et al., 2004, J. Biol. Chem. 279: 41038. Esta región contiene también el motivo GLDFIP absolutamente conservado.

40 En un aspecto, la presente divulgación se refiere a polipéptidos quiméricos que se basan en la leptina de pinnípedo de tipo silvestre con una secuencia del bucle AB incorporada procedente de leptina humana madura. Por ejemplo, el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre (SEQ ID NO:28), en el que la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 23-49 de la SEQ ID NO:28 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 25-51 de A100 (SEQ ID NO:24). Específicamente, el polipéptido quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:58:

50 **Leptina de pinnípedo con los aminoácidos 23-49 sustituidos con los aminoácidos 25-51 (Bucle AB) de metreleptina, respectivamente:**

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSGMDQILATYQQI
 LTSLQSRVSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEVV
 ALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:58).

5 Por ejemplo, el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre con una metionina en el extremo N (SEQ ID NO:31), en el que la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 23-49 de la SEQ ID NO:31 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 25-51 de A100 (SEQ ID NO:24). Específicamente, el polipéptido quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:59:

10 **Leptina de pinnípedo con metionina en el extremo N, y con los aminoácidos 23-49 sustituidos con los aminoácidos 25-51 (Bucle AB) de metreleptina, respectivamente:**

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSGMDQILATYQ
 QILTSLQSRVSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTE
 VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:59).

F. Polipéptidos quiméricos que incorporan el bucle 3-4 humano

15 La región del bucle 3-4 de un polipéptido de leptina humana madura se extiende a una región contigua de 27 aminoácidos. Se cree que el bucle 3-4 contiene una parte del sitio III de unión a leptina o su receptor. Véanse, por ejemplo, Peelman et al., 2004, J. Biol. Chem. 279: 41038.

20 En un aspecto, la presente divulgación se refiere a polipéptidos quiméricos que se basan en la leptina de pinnípedo de tipo silvestre con una secuencia del bucle 3-4 incorporada procedente de la leptina humana madura. Por ejemplo, el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre (SEQ ID NO:28), en el que la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 93-119 de la SEQ ID NO:28 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 95-121 de A100 (SEQ ID NO:24). Específicamente, el polipéptido quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:60:

25 **Leptina de pinnípedo con los aminoácidos 93-119 sustituidos con los aminoácidos 95-121 (bucle 3-4) de metreleptina, respectivamente:**

30 PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSTSGMDQILATYQQ
 ILTSLQSRVSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCHLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTE
 VALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:60).

35 Por ejemplo, el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre con una metionina en el extremo N (SEQ ID NO:31), en el que la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 93-119 de la SEQ ID NO:31 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 95-121 de A100 (SEQ ID NO:24). Específicamente, el polipéptido quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:61:

Leptina de pinnípedo con metionina en el extremo N, y con los aminoácidos 93-119 sustituidos con los aminoácidos 95-121 (bucle 3-4) de metreleptina, respectivamente:

40 MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSTSGMDQILATYQ
 QILTSLQSRVSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCHLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTE
 VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:61).

G. Polipéptidos Combinados quiméricos

45 En otro aspecto de la presente divulgación, se describe una serie de polipéptidos combinados quiméricos. Estos polipéptidos combinados quiméricos se basan en un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre en el que dos o más regiones contiguas de 1-30 aminoácidos de una secuencia de leptina de pinnípedo de tipo silvestre (por ejemplo, SEQ ID NO:28 o SEQ ID NO:31) se han sustituido con una región contigua de 1-30 aminoácidos de una secuencia de leptina humana madura. Los polipéptidos combinados quiméricos se pueden diseñar mediante ingeniería genética para demostrar las propiedades físicas potenciadas en comparación con los polipéptidos de

leptina humana madura que se usan para derivar las secuencias, reteniendo a la vez la actividad biológica de la leptina humana.

5 En un aspecto, la presente divulgación se refiere a polipéptidos quiméricos que se basan en una leptina de pinnípedo de tipo silvestre con una secuencia de la hélice 1 incorporada y una secuencia de la hélice 3 incorporada procedentes de la leptina humana madura. Por ejemplo, el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre (SEQ ID NO:28), en el que la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 3-22 de la SEQ ID NO:28 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 5-24 de A100 (SEQ ID NO:24), y la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 71-92 de la SEQ ID NO:28 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 73-94 de A100 (SEQ ID NO:24). Específicamente, el polipéptido quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:62:

15 **Leptina de pinnípedo con los aminoácidos 3--22 sustituidos por los aminoácidos 5-24 (hélice 1) de metreleptina, y los aminoácidos 71-92 sustituidos con los aminoácidos 73-94 (hélice 3) de metreleptina, respectivamente:**

PIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ
 QILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEV
 VALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:62)

20 Por ejemplo, el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre con una metionina en el extremo N (SEQ ID NO:31), en el que la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 3-22 de la SEQ ID NO:31 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 5-24 de A100 (SEQ ID NO:24), y la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 71-92 de la SEQ ID NO:31 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 73-94 de A100 (SEQ ID NO:24). Específicamente, el polipéptido quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:63:

30 **Leptina de pinnípedo con metionina en el extremo N, y con los aminoácidos 3-22 sustituidos con los aminoácidos 5-24 (hélice 1) de metreleptina, y los aminoácidos 72-93 sustituidos con los aminoácidos 73-94 (hélice 3) de metreleptina, respectivamente:**

MPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATY
 QQILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTE
 VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:63)

35 Además, la presente divulgación se refiere a polipéptidos quiméricos que se basan en una leptina de pinnípedo de tipo silvestre con una secuencia de la hélice 3 incorporada y una secuencia del bucle AB incorporada procedentes de la leptina humana madura. Por ejemplo, el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre (SEQ ID NO:28), en el que la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 71-92 de la SEQ ID NO:28 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 23-49 de la SEQ ID NO:28 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 25-51 de A100 (SEQ ID NO:24). Específicamente, el polipéptido quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:64:

45 **Leptina de pinnípedo con los aminoácidos 71-92 sustituidos con los aminoácidos 73-94 (hélice 3) de metreleptina, y con los aminoácidos 23-49 sustituidos con los aminoácidos 25-51 (bucle AB) de metreleptina, respectivamente:**

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSGMDQILATYQQI
 LTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEVV
 ALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:64)

50 Por ejemplo, el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre con una metionina en el extremo N (SEQ ID NO:31), en el que la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 71-92 de la SEQ ID NO:31 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 73-94 de A100 (SEQ ID NO:24), y la región contigua que se

extiende a los aminoácidos en las posiciones 23-49 de la SEQ ID NO:31 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 25-51 de A100 (SEQ ID NO:24). Específicamente, el polipéptido quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:65:

- 5 **Leptina de pinnípedo con metionina en el extremo N, y con los aminoácidos 71-92 sustituidos con los aminoácidos 73-94 (hélice 3) de metreleptina, y con los aminoácidos 23-49 sustituidos con los aminoácidos 25-51 (bucle AB) de metreleptina, respectivamente:**

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSGMDQILATYQ
 QILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEV
 VALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:65)

10 Además, la presente divulgación se refiere a polipéptidos quiméricos que se basan en una leptina de pinnípedo de tipo silvestre con una secuencia de la hélice 3 incorporada y una secuencia del bucle 3-4 incorporada procedentes de la leptina humana madura. Por ejemplo, el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre (SEQ ID NO:28), en el que la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 71-92 de la SEQ ID NO:28 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 73-94 de A100 (SEQ ID NO:24), y la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 93-119 de la SEQ ID NO:28 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 95-121 de A100 (SEQ ID NO:24). Específicamente, el polipéptido quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:66:

- 20 **Leptina de pinnípedo con los aminoácidos 71-92 sustituidos con los aminoácidos 73-94 (hélice 3) de metreleptina, y con los aminoácidos 93-119 sustituidos con los aminoácidos 95-121 (bucle 3-4) de metreleptina, respectivamente:**

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSTSGMDQILATYQQ
 ILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTE
 VALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:66)

25 Por ejemplo, el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre con una metionina en el extremo N (SEQ ID NO:31), en el que la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 71-92 de la SEQ ID NO:31 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 73-94 de A100 (SEQ ID NO:24), y la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 93-119 de la SEQ ID NO:31 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 95-121 de A100 (SEQ ID NO:24). Específicamente, el polipéptido quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:67:

- 35 **Leptina de pinnípedo con metionina en el extremo N, con los aminoácidos 71-92 sustituidos con los aminoácidos 73-94 (hélice 3) de metreleptina, y con los aminoácidos 93-119 sustituidos con los aminoácidos 95-121 (bucle 3-4) de metreleptina, respectivamente:**

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSTSGMDQILATYQ
 QILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTE
 VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:67)

40 Además, la presente divulgación se refiere a polipéptidos quiméricos que se basan en una leptina de pinnípedo de tipo silvestre con una secuencia de bucle AB incorporada y una secuencia de la hélice 4 incorporada procedentes de la leptina humana madura. Por ejemplo, el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre (SEQ ID NO:28), en el que la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 23-49 de la SEQ ID NO:28 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 25-51 de A100 (SEQ ID NO:24), y la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 120-141 de la SEQ ID NO:28 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 122-143 de A100 (SEQ ID NO:24). Específicamente, el polipéptido quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:68:

- 50 **Leptina de pinnípedo con los aminoácidos 23-49 sustituidos con los aminoácidos 25-51 (Bucle AB) de metreleptina, y con los aminoácidos 120-141 sustituidos con los aminoácidos 122-143 (hélice 4) de metreleptina, respectivamente:**

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSGMDQILATYQQI
 LTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEVV
 ALSRLQGSLQDMLWQLDLNPGC (SEQ ID NO:68)

5 Por ejemplo, el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de
 pinnípedo natural con una metionina en el extremo N (SEQ ID NO:31), en el que la región contigua que se extiende
 a los aminoácidos en las posiciones 23-49 de la SEQ ID NO:31 se ha sustituido con una región contigua que se
 extiende a los aminoácidos en las posiciones 25-51 de A100 (SEQ ID NO:24), y la región contigua que se extiende a
 los aminoácidos en las posiciones 120-141 de la SEQ ID NO:31 se ha sustituido con una región contigua que se
 extiende a los aminoácidos en las posiciones 122-143 de A100 (SEQ ID NO:24). Específicamente, el polipéptido
 10 quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:69:

**Leptina de pinnípedo con metionina en el extremo N, con los aminoácidos 23-49 sustituidos con los
 aminoácidos 25-51 (bucle AB) de metreleptina, y con los aminoácidos 120-141 sustituidos con los
 aminoácidos 122-143 (hélice 4) de metreleptina, respectivamente:**

15 MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSGMDQILATYQ
 QILTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTE
 VVALSRLQGSLQDMLWQLDLNPGC (SEQ ID NO:69)

Además, la presente divulgación se refiere a polipéptidos quiméricos que se basan en una leptina de pinnípedo
 natural con una secuencia del bucle AB incorporada y una secuencia del bucle 3-4 incorporada procedente de la
 leptina humana madura. Por ejemplo, el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un
 polipéptido de leptina de pinnípedo natural (SEQ ID NO:28), en el que la región contigua que se extiende a los
 aminoácidos en las posiciones 23-49 de la SEQ ID NO:28 se ha sustituido con una región contigua que se extiende
 a los aminoácidos en las posiciones 25-51 de A100 (SEQ ID NO:24), y la región contigua que se extiende a los
 aminoácidos en las posiciones 93-119 de la SEQ ID NO:28 se ha sustituido con una región contigua que se extiende
 25 a los aminoácidos en las posiciones 95-121 de A100 (SEQ ID NO:24). Específicamente, el polipéptido quimérico
 puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:70:

**Leptina de pinnípedo con los aminoácidos 23-49 sustituidos con los aminoácidos 25-51 (bucle AB) de
 metreleptina, y con los aminoácidos 93-119 sustituidos con los aminoácidos 95-121 (bucle 3-4) de
 metreleptina, respectivamente:**

30 PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSGMDQILATYQQI
 LTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCHLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTEV
 VALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:70)

35 Por ejemplo, el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de
 pinnípedo natural con una metionina en el extremo N (SEQ ID NO:31), en el que la región contigua que se extiende
 a los aminoácidos en las posiciones 23-49 de la SEQ ID NO:31 se ha sustituido con una región contigua que se
 extiende a los aminoácidos en las posiciones 25-51 de A100 (SEQ ID NO:24), y la región contigua que se extiende a
 los aminoácidos en las posiciones 93-119 de la SEQ ID NO:31 se ha sustituido con una región contigua que se
 extiende a los aminoácidos en las posiciones 95-121 de A100 (SEQ ID NO:24). Específicamente, el polipéptido
 40 quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:71:

**Leptina de pinnípedo con metionina en el extremo N, con los aminoácidos 23-49 sustituidos con los
 aminoácidos 25-51 (bucle AB) de metreleptina, y con los aminoácidos 93-119 sustituidos con los
 aminoácidos 95-121 (bucle 3-4) de metreleptina, respectivamente:**

45 MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSGMDQILATYQ
 QILTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCHLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTE
 VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:71).

Además, la presente divulgación se refiere a polipéptidos quiméricos que se basan en la leptina de pinnípedo natural

con una secuencia del bucle AB incorporada, y una secuencia del bucle 3-4 incorporada, y una secuencia de la hélice 3 incorporada procedente de leptina humana madura. Por ejemplo, un polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de pinnípedo natural (SEQ ID NO:28), en el que la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 23-49 de la SEQ ID NO:28 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 25-51 de A100 (SEQ ID NO:24), la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 93-119 de la SEQ ID NO:28 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 95-121 de A100 (SEQ ID NO:24), y la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 71-92 de la SEQ ID NO:28 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 73-94 de A100 (SEQ ID NO:24). Específicamente, el polipéptido quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:72:

Leptina de pinnípedo con los aminoácidos 23-49 sustituidos con los aminoácidos 25-51 (bucle AB) de metreleptina, con los aminoácidos 93-119 sustituidos con los aminoácidos 95-121 (bucle 3-4) de metreleptina, y con los aminoácidos 71-92 sustituidos con los aminoácidos 73-94 (hélice 3) de metreleptina, respectivamente:

PIQRVQDDTKTLIKTITRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSGMDQILATYQQI
 LTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSKCHLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTEVV
 ALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:72)

Por ejemplo, el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de leptina de pinnípedo natural con una metionina en el extremo N (SEQ ID NO:31), en el que la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 23-49 de la SEQ ID NO:31 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 25-51 de A100 (SEQ ID NO:24), la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 93-119 de la SEQ ID NO:31 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 95-121 de A100 (SEQ ID NO:24), y la región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 71-92 de la SEQ ID NO:28 se ha sustituido con una región contigua que se extiende a los aminoácidos en las posiciones 73-94 de A100 (SEQ ID NO:24). Específicamente, el polipéptido quimérico puede comprender la secuencia descrita en la SEQ ID NO:73:

Leptina de pinnípedo con metionina en el extremo N, con los aminoácidos 23-49 sustituidos con los aminoácidos 25-51 (bucle AB) de metreleptina, con los aminoácidos 93-119 sustituidos con los aminoácidos 95-121 (bucle 3-4) de metreleptina, y con los aminoácidos 71-92 sustituidos con los aminoácidos 73-94 (hélice 3) de metreleptina, respectivamente:

MPIQRVQDDTKTLIKTITRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSGMDQILATYQ
 QILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSKCHLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTE
 VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:73).

Los polipéptidos quiméricos proporcionados por la divulgación pueden contener una sustitución en el aminoácido Cys a Ser en la posición 30 de la secuencia de polipéptido de pinnípedo natural. En consecuencia, los siguientes polipéptidos quiméricos se describen en el presente documento:

Leptina de pinnípedo con los aminoácidos 30 y 3-22 sustituidos con los aminoácidos 32 y 5-24 (hélice 1) de metreleptina, respectivamente:

PIQKVQDDTKTIKTIVTRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLTLSGMDQILATYQ
 QILTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTE
 VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:74).

Leptina de pinnípedo con metionina en el extremo N, y con los aminoácidos 30 y 3-22 sustituidos con los aminoácidos 32 y 5-24 (hélice 1) de metreleptina, respectivamente:

MPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATY
QQILTSLQRSVSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHST
EVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:75).

Leptina de pinnípedo con los aminoácidos 30 y 50-65 sustituidos con los aminoácidos 32 y 52-67 (hélice 2) de metreleptina, respectivamente:

5 PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLKMDQTLAVYQQ
ILTSLQRSVSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEV
VALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:76).

Leptina de pinnípedo con metionina en el extremo N, y con los aminoácidos 30 y 50-65 sustituidos con los aminoácidos 32 y 52-67 (hélice 2) de metreleptina, respectivamente:

10 MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLKMDQTLAVY
QQILTSLQRSVSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHST
EVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:77).

Leptina de pinnípedo con los aminoácidos 30 y 71-92 sustituidos con los aminoácidos 32 y 73-94 (hélice 3) de metreleptina, respectivamente:

15 PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQI
LTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEVV
ALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:30).

Leptina de pinnípedo con metionina en el extremo N, y con los aminoácidos 30 y 71-92 sustituidos con los aminoácidos 32 y 73-94 (hélice 3) de metreleptina, respectivamente:

20 MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ
QILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEV
VALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:33).

Leptina de pinnípedo con los aminoácidos 30 y 120-141 sustituidos con los aminoácidos 32 y 122-143 (hélice 4) de metreleptina, respectivamente:

25 PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQI
LTSLQRSVSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEVV
ALSRLQGSQDMLWQLDLNPGC (SEQ ID NO:78).

Leptina de pinnípedo con metionina en el extremo N, y con los aminoácidos 30 y 120-141 sustituidos con los aminoácidos 32 y 122-143 (hélice 4) de metreleptina, respectivamente:

30 MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ
QILTSLQRSVSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHSTE
VVALSRLQGSQDMLWQLDLNPGC (SEQ ID NO:79).

Leptina de pinnípedo con los aminoácidos 30 y 93-119 sustituidos con los aminoácidos 32 y 95-121 (bucle 3-4) de metreleptina, respectivamente:

35

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQI
 LTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCHLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTE
 VALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:80).

Leptina de pinnípedo con metionina en el extremo N, y con los aminoácidos 30 y 93-119 sustituidos con los aminoácidos 32 y 95-121 (bucle 3-4) de metreleptina, respectivamente:

5 MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ
 QILTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCHLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTE
 VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:81).

Leptina de pinnípedo con el aminoácido 30 sustituido con el aminoácido 32, aminoácidos 3-22 sustituidos con los aminoácidos 5-24 (hélice 1) de metreleptina, y los aminoácidos 71-92 sustituidos con los aminoácidos 73-94 (hélice 3) de metreleptina, respectivamente:

10 PIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ
 QILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEV
 VALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:82)

Leptina de pinnípedo con metionina en el extremo N, y con el aminoácido 30 sustituido con el aminoácido 32, aminoácidos 3-22 sustituidos con los aminoácidos 5-24 (hélice 1) de metreleptina, y los aminoácidos 72-93 sustituidos con los aminoácidos 73-94 (hélice 3) de metreleptina, respectivamente:

15 MPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATY
 QQILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTE
 VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:83)

Leptina de pinnípedo con el aminoácido 30 sustituido con el aminoácido 32, aminoácidos 71-92 sustituidos con los aminoácidos 73-94 (hélice 3) de metreleptina, y con los aminoácidos 93-119 sustituidos con los aminoácidos 95-121 (bucle 3-4) de metreleptina, respectivamente:

20 PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQI
 LTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKSCHLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTE
 ALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:84)

Leptina de pinnípedo con metionina en el extremo N, con el aminoácido 30 sustituido con el aminoácido 32, aminoácidos 71-92 sustituidos con los aminoácidos 73-94 (hélice 3) de metreleptina, y con los aminoácidos 93-119 sustituidos con los aminoácidos 95-121 (bucle 3-4) de metreleptina, respectivamente:

25
 30 MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ
 QILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKSCHLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTE
 VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:85).

Realizaciones adicionales. Se entiende que se contempla también incluir en cada uno de los polipéptidos divulgados en el presente documento (opcionalmente) una metionina en el extremo N en marco con el primer aminoácido de los mismos que sea de origen natural. Por ejemplo, metreleptina (leptina A100) consiste en leptina madura humana a la que se ha añadido una metionina en el extremo N, como se divulga en la SEQ ID NO:24. De manera similar, se puede incluir un resto metionina en el extremo N de cualquiera de las secuencias y Fórmulas de aminoácidos divulgadas a través del presente documento.

35

- Además, se describen en el presente documento análogos de polipéptidos quiméricos. Un análogo de un polipéptido quimérico puede tener al menos un 80 %, por ejemplo, un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % o incluso más, de identidad de secuencia con un polipéptido quimérico precursor. Por ejemplo, el polipéptido quimérico precursor es un polipéptido que se muestra en la SEQ ID NO:29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 83, a las SEQ ID NO: 84 o SEQ ID NO: 85. En consecuencia, un análogo de polipéptido quimérico puede tener al menos un 80 %, por ejemplo un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % o incluso más, de identidad de secuencia con respecto a cualquier polipéptido quimérico seleccionado entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, y la SEQ ID NO: 33. Por ejemplo, un análogo de polipéptido quimérico puede tener al menos un 80 %, por ejemplo un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % o incluso más, de identidad de secuencia con respecto al polipéptido quimérico que se muestra en la SEQ ID NO: 33. Por ejemplo, un análogo de polipéptido quimérico puede tener al menos un 90 % de identidad de secuencia con respecto al polipéptido quimérico que se muestra en la SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, o la SEQ ID NO: 33. Por ejemplo, un análogo de polipéptido quimérico puede tener al menos un 90 % de identidad de secuencia con respecto al polipéptido quimérico que se define en la SEQ ID NO:33.
- Además, los análogos de polipéptidos quiméricos pueden diseñarse, prepararse, y utilizarse de acuerdo con la divulgación en que 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o incluso 21 aminoácidos de un polipéptido quimérico seleccionado entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 84, y la SEQ ID NO: 85; se sustituye(n) con otro aminoácidos, tal como un aminoácido conservativo o un aminoácido no conservativo, o se altera(n) de otra manera. Como es de uso habitual en la materia, el término "conservativo", en el contexto de las sustituciones de aminoácidos se refiere a la sustitución que mantiene las propiedades del tipo de carga (por ejemplo, aniónica, catiónica, neutra, polar y similar), hidrofobicidad o hidrofiliidad, volumétrica (por ejemplo, contactos de tipo van der Waals y similares), y/o funcionalidad (por ejemplo, hidroxilo, amina, sulfhidrilo y similar). El término "no conservativo" se refiere a una sustitución de aminoácido que no es conservativa.
- En otro aspecto, la divulgación proporciona análogos de polipéptidos quiméricos que comprenden al menos una región contigua de 1-30 aminoácidos procedente de una secuencia análoga de leptina humana madura que contiene al menos una sustitución de aminoácido en una posición donde se observa divergencia en una posición correspondiente en una leptina procedente de otra especie.
- Como se entiende en la materia, por ejemplo, las leptinas de murino, leptinas de rata, leptinas de bovino, leptinas de porcino, y leptinas de mono rhesus, tales como las divulgadas en el presente documento, son cada una de ellas sustancialmente homólogas a las leptinas humanas; en particular, las formas maduras de estas leptinas son sustancialmente homólogas a las leptinas maduras, y, además, particularmente próximas a la porción del extremo N de la proteína. Se pueden preparar análogos de dichas leptinas, tales como la forma 1 de la leptina humana madura (SEQ ID NO:20) y metreleptina (SEQ ID NO:24), tal como sustituyendo, o alterando de otra forma los restos de aminoácidos de una o más posiciones en dichas secuencias donde se observa divergencias en una leptina de ratón, rata, bovino, porcino, o mono rhesus madura correspondiente. Por ejemplo, las leptinas humanas maduras (por ejemplo, SEQ ID NO:20) estimulan las respuestas biológicas en, por ejemplo, ratones, rata, y mono). Véanse, por ejemplo, documento WO 98/28427, documento WO 2009/064298, documento US2007/0020284, documento US2008/0207512, y Murakami et al., 1995, Biochem. Biophys. Res. Comm. 209: 944-952. Como las leptinas maduras humanas tienen actividad biológica en, por ejemplo, dichas especies pueden diseñarse y prepararse análogos de leptinas en los que uno o más aminoácidos de las posiciones que son divergentes en las correspondientes posición(ones) de una leptina procedente de una o más de dichas especies se sustituyen por los aminoácido(s) de dichas posiciones divergentes correspondientes.
- Por ejemplo, utilizando una proteína leptina madura humana de acuerdo con la SEQ ID NO:20 en la que el primer aminoácido es valina y el aminoácido en la posición 146 es cisteína, se puede sustituir con otro aminoácido uno o más de los aminoácidos en las posiciones 32, 35, 50, 64, 68, 71, 74, 77, 89, 97, 100, 101, 105, 106, 107, 108, 111, 112, 118, 136, 138, 142, y 145 por los correspondientes aminoácido(s) que se encuentran en las correspondientes posición(ones) de la SEQ ID NO:2 para diseñar y preparar los análogos de leptinas comprendidos por los polipéptidos quiméricos. Además, se puede sustituir también otro aminoácido, tal como un aminoácido conservativo o un aminoácido no conservativo, en una o más de las posiciones 32, 35, 50, 64, 68, 71, 74, 77, 89, 97, 100, 101, 105, 106, 107, 108, 111, 112, 118, 136, 138, 142, y 145 de, por ejemplo, la SEQ ID NO:20 para diseñar y preparar los análogos de leptinas comprendidos por los polipéptidos quiméricos de acuerdo con la invención.
- Se pueden preparar análogos de leptina adicionales basándose en la secuencia de la proteína de rata madura (SEQ

ID NO:16). Véanse, por ejemplo, documento WO 98/28427, documento US2007/0020284, y Murakami *et al.*, 1995, *Id.* La leptina de rata madura difiere de la forma 1 de la leptina humana madura (SEQ ID NO:20) en las siguientes posiciones: 4, 32, 33, 35, 50, 68, 71, 74, 77, 78, 89, 97, 100, 101, 102, 105, 106, 107, 108, 111, 112, 118, 136, 138 y 145. En consecuencia, en una o más de dichas posiciones en la SEQ ID NO:20, se puede sustituir el aminoácido que se encuentra en la(s) posición(ones) correspondientes en la secuencia de la leptina de rata madura (SEQ ID NO:16) para diseñar y preparar los análogos de leptina comprendidos por los polipéptidos quiméricos. Además, se puede sustituir también otro aminoácido, tal como un aminoácido conservativo o un aminoácido no conservativo, en una o más de las posiciones 4, 32, 33, 35, 50, 68, 71, 74, 77, 78, 89, 97, 100, 101, 102, 105, 106, 107, 108, 111, 112, 118, 136, 138 y 145 de, por ejemplo, SEQ ID NO: 20, a fin de diseñar y preparar análogos de leptina comprendidos por los polipéptidos quiméricos.

Las posiciones entre la leptina de rata madura (SEQ ID NO:16) y la forma 1 de la leptina de murino madura (SEQ ID NO:2) que divergen de la forma 1 de la leptina humana madura (SEQ ID NO:20) son: 4, 32, 33, 35, 50, 64, 68, 71, 74, 77, 78, 89, 97, 100, 102, 105, 106, 107, 108, 111, 112, 118, 136, 138, 142, y 145. En consecuencia, en una o más de dichas posiciones en la SEQ ID NO:20, se puede sustituir el aminoácido que se encuentra en la(s) posición(ones) correspondientes en la secuencia de la leptina de rata madura (SEQ ID NO:16) o la secuencia de la forma 1 de murino madura (SEQ ID NO:2) para diseñar y preparar los análogos de leptina comprendidos por los polipéptidos quiméricos. Además, se puede sustituir también otro aminoácido, tal como un aminoácido conservativo o un aminoácido no conservativo, en una o más de las posiciones 4, 32, 33, 35, 50, 64, 68, 71, 74, 77, 78, 89, 97, 100, 102, 105, 106, 107, 108, 111, 112, 118, 136, 138, 142, y 145 para diseñar y preparar los análogos de leptina comprendidos por los polipéptidos quiméricos.

Además, los aminoácidos que se encuentran en la leptina madura del mono rhesus (SEQ ID NO:14) que divergen de la forma 1 de la leptina humana madura (SEQ ID NO:20) son (con los restos de aminoácidos indicados en paréntesis en una abreviatura de aminoácido de una letra): 8 (S), 35 (R), 48(V), 53(Q), 60(I), 66(I), 67(N), 68((L), 89(L), 100(L), 108(E), 112 (D), y 118 (L). Como leptinas humanas maduras estimulan una respuesta biológica en monos, una leptina, tal como la forma 1 de la leptina humana madura (SEQ ID NO:20) que tiene uno más de los aminoácidos divergentes de mono rhesus sustituida por otro aminoácido, tal como los aminoácidos entre paréntesis, se puede utilizar en el diseño y preparación de análogos de leptinas comprendidos por los polipéptidos quiméricos. Debe señalarse que determinados aminoácidos divergentes de rhesus son aquellos que se encuentran en, por ejemplo, la forma 1 de la leptina de murino madura anterior (posiciones 35, 68, 89, 100 y 112). De esta manera, se pueden preparar análogos de leptinas en los que uno o más aminoácidos en las posiciones 4, 8, 32, 33, 35, 48, 50, 53, 60, 64, 66, 67, 68, 71, 74, 77, 78, 89, 97, 100, 102, 105, 106, 107, 108, 111, 112, 118, 136, 138, 142, y 145 de, por ejemplo, la forma 1 de la leptina humana madura SEQ ID NO:20) se sustituyen por el(los) correspondiente(s) aminoácido(s) en dicha(s) posición(ones) en leptinas de murino o de mono rhesus (por ejemplo, SEQ ID NO:2 y/o SEQ ID NO:14).

Se pueden diseñar análogos de polipéptidos quiméricos y prepararse para comprender regiones contiguas de aminoácidos de análogos de leptinas humanas. Por ejemplo, se describen en el presente documento análogos de polipéptidos quiméricos que se basan en un polipéptido de pinnipedo de tipo silvestre en el que al menos una región contigua de 1-30 aminoácidos de una secuencia de leptina de pinnipedo de tipo silvestre se ha sustituido con una región contigua de 1-30 aminoácidos de una secuencia análoga de la leptina humana madura, y en el que la secuencia análoga de la leptina humana madura contiene al menos una sustitución de aminoácido en una posición donde se observa divergencia en una posición correspondiente en una leptina de otra especie. Se proporcionan también análogos de polipéptidos quiméricos que comprenden dos o más regiones contiguas de 1-30 aminoácidos de una secuencia análoga de la leptina humana madura.

Los polipéptidos quiméricos a los que se une un resto químico son derivados de polipéptidos. Se ha descubierto que la derivatización de polipéptidos mediante la unión de uno o más restos químicos proporciona alguna ventaja bajo determinadas circunstancias, tal como para aumentar la estabilidad y el tiempo de circulación de la proteína terapéutica y disminuir la inmunogenicidad y la propensión para, por ejemplo, generar de anticuerpos neutralizantes y/o la incidencia de reacciones en el sitio de inyección. Véanse, por ejemplo, documento WO 98/28427, documento US2007/0020284, patente de EE.UU. n.º 4.179.337, Davis *et al.*, concedida el 18 de diciembre de 1979. Para una revisión, véase Abuchowski *et al.*, en ENZYMES AS DRUGS. (J. S. Holcerberg y J. Roberts, eds. págs. 367-383 (1981)); Francis *et al.*, *Id.*

Los derivados de polipéptidos pueden constituir polipéptidos en los cuales se ha realizado una modificación química de sus grupos aminoácidos secundarios, átomos de α -carbono, grupo amino terminal, o grupo de ácido carboxílico terminal. Una modificación química incluye, pero no de forma limitativa, unir uno o más restos químicos, creación de nuevos enlaces, y eliminación de uno o más restos químicos. Las modificaciones en los grupos secundarios de aminoácidos incluyen, sin limitación, alquilación, acilación, formación del éster, formación de la amida, acoplamiento de la maleimida, acilación de grupos ϵ -amino de lisina, N-alquilación de la arginina, histidina, o lisina, alquilación de grupos ácido glutámico o aspártico o carboxílico, y desaminación de glutamina o asparagina. Las modificaciones del grupo amino terminal incluyen, sin limitación, las modificaciones de desamino, alquil N inferior, alquil N di inferior, y N-acilo, tales como alquilacilos, alquilacilos ramificados, alquilaril-acilos. Las modificaciones en el grupo carboxi terminal incluyen, sin limitación, las modificaciones de amida, alquilamida inferior, dialquilamida, arilamida, alquilarilamida y éster de alquilo inferior. Alquilo inferior es alquilo C₁-C₄. Además, uno o más grupos secundarios, o

grupos terminales, pueden protegerse con grupos protectores conocidos del químico normalmente experto en síntesis. El átomo de carbono α de un aminoácido puede estar monometilado o dimetilado.

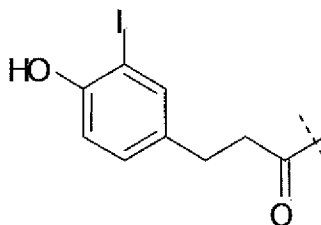
5 Dichos derivados incluyen polipéptidos conjugados a una o más moléculas poliméricas solubles en agua, tales como polietilenglicol ("PEG") o cadenas de ácidos grasos de diversas longitudes (por ejemplo, estearilo, palmitoilo, octanoilo), mediante la adición de poliaminoácidos, tales como poli-his, poli-arg, poli-lis, y poli-ala, o mediante la adición de sustituyentes de moléculas pequeñas que incluyen alquilos cortos y alquilos restringidos (por ejemplo, ramificados, cíclicos, condensados, adamantilo), y grupos aromáticos. Las moléculas poliméricas solubles en agua pueden tener un peso molecular comprendido de aproximadamente 500 Daltons a aproximadamente 60.000

10 Daltons. Dichas conjugaciones poliméricas pueden producirse singularmente en el extremo N o el extremo C o en las cadenas secundarias de restos de aminoácidos en la secuencia de un polipéptido quimérico como se divulga en el presente documento. Como alternativa, pueden existir múltiples sitios de derivatización a lo largo de la secuencia de aminoácidos de dicho polipéptido quimérico. La sustitución de uno o más aminoácidos con lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, o cisteína puede proporcionar sitios adicionales para la derivatización. Véanse, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos con números 5.824.784 y 5.824.778. Un polipéptido quimérico puede conjugarse a una, dos, o tres moléculas poliméricas.

20 Por ejemplo, las moléculas poliméricas solubles en agua se unen a un grupo amino, carboxilo, o tiol, y pueden estar unidas al extremo N o C, o a las cadenas secundarias de lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, o cisteína. Como alternativa, las moléculas poliméricas solubles en agua pueden unirse a grupos diamina y dicarboxílicos. Específicamente, el polipéptido quimérico puede conjugarse a una, dos, o tres moléculas de PEG a través de un grupo amino épsilon o un aminoácido lisina.

25 Los derivados polipeptídicos incluyen también polipéptidos con alteraciones químicas en uno o más restos de aminoácidos. Dichas alteraciones químicas incluyen amidación, glicosilación, acilación, sulfatación, fosforilación, acetilación, y ciclación. Las alteraciones químicas pueden producirse singularmente en los extremos N o C o en las cadenas secundarias de restos de aminoácidos en la secuencia de una leptina. El extremo C de estos péptidos puede tener un grupo exento de -OH o -NH₂. El extremo N terminal puede estar protegido con un grupo isobutiloxycarbonilo, un grupo isopropiloxycarbonilo, un grupo n-butiloxycarbonilo, un grupo etoxycarbonilo, un grupo isocaproilo ("isocap"), un grupo octanilo, un grupo octil glicina (denotado como "G(Oct)" u "octilGly"), un grupo de ácido 8-aminooctanoico, un dansilo, y/o un grupo Fmoc. La ciclación puede ser a través de la formación de puentes disulfuro. Como alternativa, pueden existir múltiples sitios de alteración química a lo largo de la secuencia de aminoácidos del polipéptido.

35 Los polipéptidos quiméricos pueden alterarse químicamente para incluir un grupo de Bolton-Hunter. Se conocen en la técnica los reactivos de Bolton-Hunter ("Radioimmunoassay and related methods," A. E. Bolton y W. M. Hunter, Capítulo 26 de HANDBOOK OF EXPERIMENTAL IMMUNOLOGY, VOLUMEN I, IMMUNOCHEMISTRY, editado por D. M. Weir, Blackwell Scientific Publications, 1986), y pueden utilizarse para introducir restos de tipo tirosina con un enlace natural, a través de grupos α -amino amino terminales o grupos ϵ -amino de lisina. Por ejemplo, el extremo N de un polipéptido puede modificarse con un grupo de Bolton-Hunter; un resto interno de lisina puede modificarse con un grupo de Bolton-Hunter; o pueden existir múltiples sitios de modificación de Bolton-Hunter a lo largo de la secuencia de aminoácidos del polipéptido. Los reactivos de Bolton-Hunter utilizados para la modificación del polipéptido están comercialmente disponibles, y pueden incluir, aunque no de forma limitativa, reactivo de Bolton-Hunter soluble en agua, sulfosuccinimidil-3-[4-hidrofenil]propionato (Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL) y reactivo-2 de Bolton-Hunter, 3-(4-hidroxi-3-yodofenil) propionato de N-succinimidilo (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Japón, n.º de catálogo 199-09341). Se ilustra a continuación un grupo de Bolton-Hunter ilustrativo conjugado a través de un enlace amida a un polipéptido, en el que la línea punteada pasa a través del enlace amida:



50 Los polipéptidos se pueden yodar (tal como radiomarcarse con ¹²⁵I) antes o después de la modificación de Bolton-Hunter.

55 Los derivados polipeptídicos pueden incluir una o más modificaciones de un resto aminoácido "no esencial". En el contexto de la divulgación, un resto aminoácido "no esencial" es un resto que se puede alterar, por ejemplo, derivatizar, sin eliminar o reducir sustancialmente la actividad (por ejemplo, la actividad agonista) del polipéptido quimérico. Los polipéptidos quiméricos de la presente divulgación pueden incluir derivatizaciones de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más restos de aminoácidos; de estos, uno o más restos de aminoácidos pueden ser restos de

aminoácidos no esenciales. Además, los polipéptidos pueden derivatizarse de tal manera que incluyen adiciones de al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más aminoácidos sin eliminar o reducir sustancialmente la actividad del polipéptido. Además, tales como los restos de aminoácidos no esenciales pueden sustituirse por un resto de aminoácido que es susceptible de derivatización como se describe a lo largo del presente documento.

5 Tal como se usa en el presente documento, "aminoácido", "resto de aminoácido" y similares se refiere a aminoácidos naturales, aminoácidos no naturales, y aminoácidos modificados. Salvo que se indique lo contrario, cualquier referencia a un aminoácido, general o específicamente por el nombre, incluye referencias a los estereoisómeros D y L si su estructura permite dichas formas estereoisómeras. Los aminoácidos naturales incluyen
 10 alanina (Ala), arginina (Arg), asparagina (Asn), ácido aspártico (Asp), cisteína (Cys), glutamina (Gln), ácido glutámico (Glu), glicina (Gly), histidina (His), isoleucina (Ile), leucina (Leu), Lisina (Lys), metionina (Met), fenilalanina (Phe), prolina (Pro), serina (Ser), treonina (Thr), triptófano (Trp), tirosina (Tyr) y valina (Val). Los aminoácidos no naturales incluyen, aunque no se limitan a homolisina, homoarginina, homoserina, ácido azetidino-carboxílico, ácido 2-
 15 aminoadípico, ácido 3-aminoadípico, beta-alanina, ácido aminopropiónico, ácido 2-aminobutírico, ácido 4-aminobutírico, ácido 6-aminocaproico, ácido 2-aminoheptanoico, ácido 2-aminoisobutírico, ácido 3-aminoisobutírico, ácido 2-aminopimélico, butilglicina terciaria, ácido 2,4-diaminoisobutírico, desmosina, ácido 2,2'-diaminopimélico, ácido 2,3-diaminopropiónico, N-etilglicina, N-etilasparagina, homoprolina, hidroxilisina, alo-hidrolisina, 3-hidroxiprolina, 4-hidroxiprolina, isodesmosina, alo-isoleucina, N-metilalanina, N-metilglicina, N-metilisoleucina, N-metilpencilglicina, N-metilvalina, naftalanina, norvalina, norleucina, ornitina, pencilglicina, ácido piperídico y tioprolina.
 20 Los aminoácidos no naturales adicionales incluyen restos de aminoácido modificados que están bloqueados químicamente, de forma reversible o irreversible, o químicamente modificados en su grupo amino del extremo N o sus grupos de cadenas secundarias, como por ejemplo, aminoácidos D y L metilados o restos en los que los grupos funcionales de la cadena secundaria están modificados químicamente con otro grupo funcional. Por ejemplo, los aminoácidos modificados incluyen metionina sulfóxido; metionina sulfona; ácido aspártico-(beta-metil éster), un
 25 aminoácido modificado de ácido aspártico; N-etilglicina, un aminoácido modificado de glicina; o alanina carboxamida, un aminoácido modificado de alanina. Los restos adicionales que se pueden incorporar se describen en Sandberg et al., J. Med. Chem. 41: 2481-91, 1998.

30 Tal como se ha mencionado anteriormente, los restos químicos adecuados para dicha derivatización de los polipéptidos quiméricos incluyen, por ejemplo, diversos polímeros solubles en agua. Preferentemente, para uso terapéutico de la preparación del producto final, el polímero será farmacéuticamente aceptable. Una persona experta en la materia será capaz de seleccionar el polímero deseado basándose en dichas consideraciones dependiendo de si el conjugado de polímero/proteína se usará terapéuticamente, y de ser así, la dosificación deseada, el tiempo de circulación, la resistencia a la proteólisis, y otras consideraciones. Para los polipéptidos quiméricos, puede
 35 discernirse la eficacia de la derivatización administrando el polipéptido derivatizado, en la forma deseada (es decir, mediante bomba osmótica, o, más preferentemente, mediante inyección o infusión, o, formularse adicionalmente para administración oral, pulmonar o nasal, por ejemplo), y observar los efectos biológicos y las respuestas biológicas como se describe en el presente documento.

40 Dicho polímero soluble en agua puede seleccionarse entre el grupo que consiste en, por ejemplo, polietilenglicol, copolímeros de etilenglicol/propilenglicol, carboximetilcelulosa, dextrano, poli(alcohol vinílico), polivinilpirrolidona, poli-1, 3-dioxolano, poli-1,3,6-trioxano, copolímero de etileno/anhídrido málico, poliaminoácidos (tanto homopolímeros como copolímeros aleatorios), y dextrano o poli(n-vinil pirrolidona)polietilenglicol, homopolímeros de propilenglicol, copolímeros de óxido de polipropileno/óxido de etileno, polioles polioxi-etilados y alcohol polivinílico. El
 45 polietilenglicol propionaldehído puede tener ventajas en la fabricación por su estabilidad en agua. Además, también se pueden usar succinato, estireno, e hidroxietilalmidón.

Los derivados de polipéptidos quiméricos de acuerdo con la divulgación pueden prepararse uniendo poliaminoácidos aminoácidos ramificados. Por ejemplo, el poliaminoácido puede ser una proteína transportadora adicional, tal como un resto Fc, que puede servir para aumentar también la semivida en circulación del polipéptido quimérico. Además,
 50 se pueden seleccionar dichos poliaminoácidos a partir del grupo consistente en albúmina de suero (tal como albúmina de suero humano), un anticuerpo adicional o una porción del mismo (por ejemplo, la región Fc), u otros poliaminoácidos, por ejemplo, polilisinas. Como se indica a continuación, la localización de la unión del poliaminoácido puede ser en el extremo N del polipéptido, o el extremo C, o en otros lugares entre ellos, y también
 55 pueden conectarse mediante un resto "enlazador" químico al polipéptido, tal como un enlazador peptídico o un enlazador no peptídico.

El polímero puede tener cualquier peso molecular, y puede estar ramificado o no ramificado. Para el polietilenglicol, el peso molecular preferido es entre aproximadamente 2 kilodaltons (kDa) y aproximadamente 100 kDa (el término
 60 "aproximadamente" indica que en las preparaciones de polietilenglicol, algunas moléculas pesarán más, algunas menos, que el peso molecular indicado) para facilitar la manipulación y la fabricación. Por ejemplo, el polietilenglicol puede tener entre aproximadamente 2 kDa y aproximadamente 60 kDa, entre aproximadamente 2 kDa y aproximadamente 40 kDa, entre aproximadamente 5 kDa y aproximadamente 40 kDa, entre aproximadamente 10 kDa y aproximadamente 40 kDa, entre aproximadamente 5 kDa y aproximadamente 30 kDa, entre aproximadamente
 65 5 kDa y aproximadamente 20 kDa, o entre aproximadamente 10 kDa y aproximadamente 20 kDa. Se pueden usar otros tamaños, dependiendo del perfil terapéutico deseado (por ejemplo, la duración de la liberación sostenida

deseada, las características de solubilidad, los efectos, en su caso, sobre la actividad biológica, la facilidad en la manipulación, el grado o la ausencia de antigenicidad y otros efectos conocidos del polietilenglicol unido a una leptina y/o a un polipéptido quimérico de la invención). Las consideraciones adicionales que pueden afectar en la selección de un PEG de un peso molecular concreto que se puede unir a un polipéptido quimérico para generar un derivado quimérico incluyen la extensión en la cual dicho peso molecular puede: mitigar la agregación y/o aumentar la solubilidad del polipéptido quimérico, cuando está presente en una composición o formulación farmacéuticamente aceptable, o cuando se expone a fluidos o tejidos fisiológicos tras la administración a un sujeto (tal como mediante inyección); mitigar la incidencia de las reacciones en el sitio de inyección producidas por la administración del polipéptido quimérico tras la administración a un sujeto mediante inyección; mitigar la generación de anticuerpos neutralizantes que puedan aumentar contra el polipéptido quimérico como consecuencia de la administración de dicho polipéptido quimérico a un sujeto; y similares.

El número de moléculas poliméricas unidas de esta manera puede variar, y un experto en la materia será capaz de discernir el efecto resultante sobre la función. Se puede monoderivatizar, o se puede proporcionar para una di-, tri-, tetra o alguna combinación de derivatización, con los mismos o diferentes restos químicos (por ejemplo, polímeros, tales como diferentes pesos de polietilenglicoles). La proporción de moléculas poliméricas a moléculas polipeptídicas quiméricas que se van a derivatizar variará, dependiendo de cómo varían sus concentraciones en la mezcla de reacción. En general, la relación óptima, en términos de eficacia de reacción en la que no existe exceso de polipéptido o polímero quimérico sin reaccionar, se determinará por factores tales como el grado deseado de derivatización (por ejemplo, mono, di, tri-, etc.), el peso molecular del polímero seleccionado, si el polímero está ramificado o no ramificado, y las condiciones de reacción.

Los restos químicos deben unirse al polipéptido quimérico teniendo en cuenta los efectos sobre los dominios funcionales o antigénicos del polipéptido quimérico. Existen numerosos métodos de unión disponibles para los expertos en la materia. Por ejemplo, documento EP 0 401 384 (acoplamiento de PEG a G-CSF), véase también Malik et al., 1992, Exp. Hematol. 20:1028-1035 (notifican la pegilación de GM-CSF utilizando cloruro de tresilo). Por ejemplo, el polietilenglicol puede unirse covalentemente a través de restos de aminoácidos mediante un grupo reactivo, tal como, un grupo amino o carboxilo libre. Los grupos reactivos son aquellos a los cuales se puede unir una molécula de polietilenglicol activada. Los restos aminoácidos que tienen un grupo amino libre pueden incluir restos lisina y el resto aminoácido del extremo N. Aquellos que tienen un grupo carboxilo libre pueden incluir restos de ácido aspártico, restos de ácido glutámico, y el resto aminoácido del extremo C. Se pueden utilizar también restos de grupos sulfhidrilo como un grupo reactivo para unir la(s) molécula(s) de polietilenglicol. Preferida para fines terapéuticos es la unión a un grupo amino, tal como la unión al extremo N o al grupo lisina. La unión a restos importantes para la unión al receptor debe evitarse si se desea la unión al receptor.

Se puede desear específicamente diseñar y preparar polipéptidos quiméricos de la divulgación modificados químicamente en el extremo N. Utilizando el polietilenglicol como ilustración de las presentes composiciones, se puede seleccionar entre varias moléculas de polietilenglicol (según el peso molecular, ramificación, etc.), la proporción de moléculas de polietilenglicol a moléculas de polipéptidos quiméricos en la mezcla de reacción, el tipo de reacción de pegilación que se va a llevar a cabo, y el método de obtener la proteína seleccionada pegilada en el extremo N. El método de obtener la preparación pegilada en el extremo N (es decir, separando este resto de otros restos monopegilados si es necesario) puede ser mediante purificación del material pegilado en el extremo N de una población de moléculas de proteínas pegiladas. La modificación química selectiva en el extremo N puede llevarse a cabo mediante alquilación reductora lo que aprovecha las diferencias de reactividad entre los diferentes tipos de grupos amino primarios (lisina frente al extremo N) disponibles para la derivatización en una proteína concreta. En las condiciones de reacción adecuadas, se consigue la derivatización sustancialmente selectiva de la proteína en el extremo N con un grupo carbonilo que contiene el polímero. Por ejemplo, se puede pegilar la proteína del extremo N selectivamente llevando a cabo la reacción a un pH que permite tomar ventaja de las diferencias de pKa entre el grupo s-amino de los restos de lisina y el del grupo a-amino del resto del extremo N de la proteína. Mediante dicha derivatización selectiva, se controla la unión de un polímero soluble en agua a la proteína: la conjugación con el polímero tiene lugar de forma predominante en el extremo N de la proteína y no hay modificación significativa de otros grupos reactivos, tales como los grupos amino de la cadena secundaria de lisina. Utilizando la alquilación reductora, el polímero soluble en agua puede ser del tipo descrito anteriormente, y debería tener un único aldehído reactivo para el acoplamiento con la proteína. Se puede usar polietilenglicol propionaldehído, que contiene un único aldehído reactivo.

III. Métodos de diseño y producción

Diseño de construcciones.

Los polipéptidos quiméricos descritos en el presente documento pueden diseñarse en su estructura de aminoácidos. Estas secuencias pueden a continuación someterse a traducción inversa utilizando varios productos conocidos en la técnica de tal manera que se optimice la secuencia de nucleótidos para el hospedador de la expresión deseado, por ejemplo, basándose en la expresión de la proteína, optimización de codones, y el contenido del sitio de restricción. Por ejemplo, la secuencia de nucleótidos puede optimizarse para *E. coli* basándose en la expresión de la proteína y para el contenido del sitio de restricción. Basándose en la secuencia de nucleótidos de interés, se pueden

proporcionar oligonucleótidos solapantes mediante la PCR multietapas, como se conoce en la materia. Estos oligonucleótidos pueden utilizarse en múltiples reacciones de la PCR en condiciones bien conocidas en la materia para preparar el ADN que codifica la proteína de interés. Para un ejemplo es 1X tampón Amplitaq, MgCl₂ 1,3 mM, dNTP 200uM, 4 U de Amplitaq Gold, 0,2 uM de cada cebador (AmpliTaQ Gold, ABI), con parámetros de ciclación:

5 (94 °C:30 s, 58 °C:1 min, 72 °C:1 min), 35 ciclos.

Se pueden añadir sitios de restricción a los extremos de los productos de la PCR para uso de la ligadura de un vector, como se conoce en la materia. Los sitios específicos pueden incluir Nde1 y Xho1, de tal manera que el ADNc puede estar a continuación en el marco de lectura adecuado en un vector de expresión pET45b (Novagen).

10 Utilizando estos sitios, cualquier etiqueta His en el extremo N que esté en este vector puede retirarse ya que el sitio de inicio de la traducción estaría en la dirección 3' de la etiqueta. Una vez que se han completado las construcciones de expresión, se puede llevar a cabo la verificación mediante secuenciación utilizando, por ejemplo, el cebador del promotor T7, el cebador del terminador T7 y los protocolos normalizados de ABI BigDye Term v3.1 como se conoce en la técnica. Se puede obtener la información de la secuencia a partir por ejemplo de, un analizador de ADN ABI

15 3730 y se puede analizar utilizando el programa informático Vector NTI v.10 (Invitrogen). Se pueden diseñar las construcciones de expresión de una manera modular de tal manera que las secuencias del enlazador se pueden cortar fácilmente y cambiarse, como se conoce en la materia.

Los sitios de reconocimiento de proteasa, conocidos en la materia o descritos en el presente documento, se pueden incorporar a las construcciones útiles para el diseño, la construcción, la manipulación y la producción de los polipéptidos quiméricos recombinantes descritos en el presente documento.

20

Métodos generales de producción.

25 Los polipéptidos quiméricos descritos en el presente documento pueden prepararse utilizando técnicas biológicas, químicas, y/o técnicas de ADN recombinante que se conocen en la materia. Los métodos ilustrativos se describen en el presente documento y en la patente de Estados Unidos n.º 6.872.700; documento WO 2007/139941; documento WO 2007/140284; documento WO 2008/082274; documento WO 2009/011544; y la publicación de Estados Unidos n.º 2007/0238669. En el presente documento se definen otros métodos para preparar los

30 compuestos.

Los polipéptidos quiméricos descritos en el presente documento pueden prepararse utilizando técnicas de síntesis de péptidos en fase sólida normalizadas, tal como un sintetizador de péptidos automatizado o semiautomatizado. Los péptidos quiméricos pueden producirse mediante síntesis no biológica de péptidos usando aminoácidos y/o

35 derivados de aminoácidos que tienen cadenas secundarias reactivas protegidas, comprendiendo la síntesis de péptidos no biológicos el acoplamiento por etapas de los aminoácidos y/o los derivados de aminoácidos para formar un polipéptido de acuerdo con el primer aspecto que tiene cadenas secundarias reactivas protegidas, eliminando los grupos protectores de las cadenas secundarias reactivas del polipéptido, y plegando el polipéptido en la solución acuosa. De esta manera, los aminoácidos normales (por ejemplo, glicina, alanina, fenilalanina, isoleucina, leucina y

40 valina) y los derivados de aminoácidos preprotegidos se usan para preparar secuencialmente una secuencia de polipéptidos, en solución o sobre un soporte sólido en un disolvente orgánico. Cuando se construye una secuencia polipeptídica completa, los grupos protectores se eliminan y se deja plegar el polipéptido en una solución acuosa.

Normalmente, utilizando dichas técnicas, un aminoácido protegido con alfa-N-carbamoilo y un aminoácido unido a la

45 cadena peptídica en crecimiento o a una resina se acoplan a TA en un disolvente inerte (por ejemplo, dimetilformamida, n-metilpirrolidona, cloruro de metileno, y similares) en presencia de agentes de acoplamiento (por ejemplo, diciclohexilcarbodiimida, 1-hidroxibenzotriazol, y similares) en presencia de una base (por ejemplo, diisopropiletamina, y similares). El grupo protector alfa-N-carbamoilo se elimina de la resina peptídica resultante utilizando un reactivo (por ejemplo, son preferibles ácido trifluoroacético, piperidina, y similares) y la reacción de

50 acoplamiento se repite con el siguiente aminoácido N protegido deseado se vaya a añadir a la cadena peptídica. Los grupos N protectores son bien conocidos en la materia, tales como t-butiloxicarbonilo (tBoc) fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc), y similares. Los disolventes, derivados de aminoácidos y resinas de 4-metilbenzidril-amina utilizados en el sintetizador peptídico pueden adquirirse de Applied Biosystems Inc. (Foster City, Calif.).

Para la síntesis química, la síntesis de péptidos en fase sólida es de utilidad para los polipéptidos quiméricos, ya que, de forma general, la síntesis en fase sólida es una solución directa con una excelente escalabilidad a escala comercial. La síntesis de péptidos en fase sólida puede llevarse a cabo con un sintetizador de péptidos automático (Modelo 430A, Applied Biosystems Inc., Foster City, Calif.) utilizando el sistema NMP/HOBt (Opción 1) y la química de tBoc o Fmoc (Véase el Manual del Usuario de Applied Biosystems para el sintetizador de péptidos ABI 430A,

60 Versión 1.3B Jul. 1, 1988, sección 6, págs. 49-70, Applied Biosystems, Inc., Foster City, Calif.) con protección de extremos. Las resinas peptídicas de Boc pueden escindirse con HF (-5 °C a 0 °C, 1 hora). El péptido puede extraerse de la resina alternativamente con agua y ácido acético, y los filtrados liofilizarse. Las resinas peptídicas de Fmoc pueden escindirse de acuerdo con los métodos normalizados (por ejemplo, Introduction to Cleavage Techniques, Applied Biosystems, Inc., 1990, págs. 6-12). Los péptidos pueden también ensamblarse utilizando un

65 sintetizador de Advanced Chem Tech (Modelo MPS 350, Louisville, Ky.).

Los compuestos descritos en el presente documento pueden prepararse también utilizando técnicas de ADN recombinante usando métodos conocidos en la materia, tales como Sambrook et al., 1989, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, 2ª Ed., Cold Spring Harbor. Los compuestos no peptídicos pueden prepararse mediante métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, aminoácidos que contienen fosfato y péptidos que contienen dichos aminoácidos, pueden prepararse utilizando métodos conocidos en la técnica, tal como se describe en Bartlett et al, 1986, Biorg. Chem. 14:356-377.

Los polipéptidos quiméricos pueden producirse de forma alternativa mediante técnicas recombinantes bien conocidas en la materia. Véanse, por ejemplo, Sambrook y col., 1989 (*Id.*). Estos polipéptidos quiméricos producidos mediante tecnologías recombinantes pueden expresarse a partir de un polinucleótido. Un experto en la materia apreciará que los polinucleótidos, incluyendo ADN y ARN, que codifican dichos polipéptidos quiméricos pueden obtenerse a partir del ADNc natural, por ejemplo, leptina humana, teniendo en consideración la degeneración de la utilización del codón, y se puede diseñar además mediante ingeniería genética para incorporar las sustituciones indicadas. Estas secuencias de polinucleótidos pueden incorporar codones que facilitan la transcripción del ARNm en hospedadores microbianos. Dichas secuencias de fabricación pueden construirse fácilmente de acuerdo con los métodos conocidos en la materia. Véase, por ejemplo, documento WO 83/04053. Los polinucleótidos anteriores pueden codificar también opcionalmente un resto metionilo en el extremo N. Los compuestos no peptídicos útiles en la presente divulgación pueden prepararse mediante métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los aminoácidos que contienen fosfato y los péptidos que contienen dichos aminoácidos pueden prepararse utilizando métodos conocidos en la materia. Véanse, por ejemplo, Bartlett y Landen, 1986, Bioorg. Chem. 14: 356-77.

Varios vectores de expresión/sistemas hospedadores se puede utilizar para contener y expresar una secuencia de codificación de un polipéptido quimérico. Estos incluyen, aunque no de forma limitativa, microorganismos tales como bacterias transformadas con bacteriófagos recombinantes, plásmidos o vectores cósmidos de expresión de ADN; levaduras transformadas con vectores de expresión de levaduras; sistemas de células de insectos infectadas con vectores de expresión de virus (por ejemplo, baculovirus); sistemas de células vegetales transfectadas con vectores de expresión de virus (por ejemplo, virus del mosaico de la coliflor, CaMV; virus del mosaico del tabaco, VMT) o transformados con vectores de expresión bacteriana (por ejemplo, Ti o plásmido PBR322); o sistemas de células animales. Las células de mamíferos que son útiles en las producciones de proteínas recombinantes incluyen, aunque no de forma limitativa, células VERO, células HeLa, líneas de células de ovario de hámster chino (CHO), células COS (tales como COS-7), WI 38, BHK, HepG2, 3T3, RIN, MDCK, A549, PC12, K562 y 293. Se describen en el presente documento los protocolos ilustrativos para la expresión recombinante de la proteína y/o se conocen en la técnica.

De este modo, las secuencias de polinucleótidos son útiles para generar nuevos y útiles vectores de ADN vírico y de plásmido, nuevas y útiles células hospedadoras procariotas y eucariotas transformadas y transfectadas (incluyendo células de bacterias, levaduras, y células de mamíferos que crecen en cultivo), y métodos nuevos y útiles para el crecimiento cultivado de dichas células hospedadoras capaces de la expresión de los presentes polipéptidos quiméricos. Las secuencias de polinucleótidos que codifican polipéptidos quiméricos en el presente documento pueden ser útiles para la terapia génica en casos donde se aliviaría la producción insuficiente de polipéptidos quiméricos, o la necesidad de aumentar los niveles de tales sería cumplida.

La presente divulgación proporciona también procesos para la producción de ADN recombinante de los presentes polipéptidos quiméricos. Se proporciona un proceso para producir los polipéptidos quiméricos de una célula hospedadora que contiene ácidos nucleicos que codifican el polipéptido quimérico que comprende: (a) cultivar la célula hospedadora que contiene los polinucleótidos que codifican el polipéptido quimérico en condiciones que faciliten la expresión de la molécula de ADN; y (b) obtener el polipéptido quimérico.

Las células hospedadoras pueden ser procariotas o eucariotas e incluyen bacterias, células de mamífero (tales como células de ovario de hámster chino (CHO), células de mono, células de riñón de cría de hámster, células cancerosas u otras células), células de levadura, y células de insecto.

Los sistemas hospedadores de mamíferos para la expresión de la proteína recombinante son también bien conocidos por las personas expertas en la materia. Se pueden seleccionar cepas de células hospedadoras para una capacidad concreta de procesar la proteína expresada o producir determinadas modificaciones posteriores a la traducción que serán útiles en proporcional a la actividad de la proteína. Dichas modificaciones del polipéptido incluyen, aunque no de forma limitativa, acetilación, carboxilación, glicosilación, fosforilación, lipidación y acilación. El procesamiento posterior a la traducción, que escinde una forma "prepro" de la proteína, puede ser también importante para la inserción, el plegado y/o el funcionamiento correctos. Diferentes células hospedadoras, tales como CHO, HeLa, MDCK, 293, WI38, y similares, tienen maquinaria celular específica y mecanismos característicos para dichas actividades posteriores a la traducción, y se pueden seleccionar para asegurar la correcta modificación y procesamiento de la proteína extraña introducida.

Como alternativa, se puede emplear un sistema de levadura para generar los polipéptidos quiméricos de la presente invención. La región de codificación del ADN de los polipéptidos quiméricos se amplifica mediante la PCR. Un ADN que codifica la secuencia líder de pre-pro-alfa de levadura se amplifica a partir del ADN genómico de levadura en

una reacción de la PCR utilizando un cebador que contiene los nucleótidos 1-20 del gen del factor de emparejamiento alfa y otro cebador complementario a los nucleótidos 255-235 de este gen (Kurjan y Herskowitz, 1982, Cell, 30:933-43). La secuencia de codificación del líder pre-pro-alfa y los fragmentos de la secuencia de codificación del polipéptido quimérico se ligan en un plásmido que contiene el promotor del alcohol deshidrogenasa (ADH2) de levadura, de tal manera que el promotor dirige la expresión de una proteína de fusión que consiste el factor pre-pro-alfa fusionado al polipéptido quimérico maduro. Como se enseña en Rose y Broach, Meth. Enz. 185: 234-79, Goeddel ed., Academic Press, Inc., San Diego, California (1990), el vector incluye además un terminador de la transcripción ADH2 en la dirección 3' del sitio de clonación, el origen de replicación "2 micron", el gen leu-2d de levadura, los genes REP1 y REP2 de levadura, el gen de la beta lactamasa de *E. coli*, y un origen de replicación de *E. coli*. Los genes de la beta-lactamasa y leu-2d proporcionan la selección en bacterias y levaduras, respectivamente. El gen leu-2d facilita también un número de copias aumentado del plásmido en la levadura para inducir mayores niveles de expresión. Los genes REP1 y REP2 codifican las proteínas implicadas en la regulación del número de copias del plásmido.

La construcción de ADN descrita en el párrafo anterior se transforma en células de levaduras usando un método conocido, por ejemplo, tratamiento con acetato de litio (Steams et al., 1990, Meth. Enz. 185: 280-297). Se indujo el promotor ADH2 tras el agotamiento de la glucosa en el medio de crecimiento (Price et al., 1987, Gene 55:287). La secuencia pre-pro-alfa afecta la secreción de la proteína de fusión de las células. De forma simultánea, la proteína KEX2 de levadura escinde la secuencia pre-pro de los polipéptidos quiméricos maduros (Bitter et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:5330-5334).

Los polipéptidos quiméricos de la invención pueden también expresarse de forma recombinante en levadura, por ejemplo, *Pichia*, utilizando un sistema de expresión comercialmente disponible, por ejemplo, el sistema de expresión de *Pichia* (Invitrogen, San Diego, California), siguiendo las instrucciones del fabricante. Este sistema se basa también en la secuencia pre-pro-alfa que dirige la secreción, pero la transcripción de la inserción está impulsada por el promotor de la alcohol oxidasa (AOX1) tras la inducción por metanol. El polipéptido quimérico secretado se purifica a partir del medio de crecimiento de levadura mediante, por ejemplo, los métodos utilizados para purificar dicho polipéptido quimérico a partir de sobrenadantes celulares bacterianos y de mamíferos.

Como alternativa, el ADN que codifica un polipéptido quimérico puede clonarse en un vector de expresión de baculovirus, por ejemplo, pVI1393 (PharMingen, San Diego, California). Este vector quimérico que codifica el polipéptido se utiliza a continuación según las directrices del fabricante (PharMingen) o técnicas conocidas para infectar células de *Spodoptera frugiperda*, que han crecido por ejemplo en medio SF9 exento de proteína, y para producir la proteína recombinante. La proteína se purifica y se concentra a partir del medio usando métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, una columna de heparina-Sepharose (Farmacia, Piscataway, New Jersey) y columnas secuenciales de dimensionamiento molecular (Amicon, Beverly, Massachusetts), y resuspenderse en la solución adecuada, por ejemplo, PBS. Se puede usar el análisis mediante SDS-PAGE para caracterizar la proteína, por ejemplo, mostrando una única banda que confirma el tamaño del polipéptido quimérico deseado, así como un análisis completo de la secuencia de aminoácidos, por ejemplo, secuenciación Edman en un secuenciador de péptidos Proton 2090, o confirmación de la secuencia de su extremo N.

Por ejemplo, la secuencia de ADN que codifica el polipéptido quimérico maduro previsto se puede clonar en un plásmido que contiene un promotor deseado y, opcionalmente, una secuencia líder (véase, por ejemplo, Better et al., 1988, Science 240:1041-1043). La secuencia de esta construcción se puede confirmar mediante secuenciación automatizada. El plásmido se transforma a continuación en *E. coli*, cepa MC1061, utilizando procedimientos normalizados que emplean la incubación con CaCl₂ y un tratamiento de choque térmico de las bacterias (Sambrook et al., *Id.*). Las bacterias transformadas se hacen crecer en medio LB suplementado con carbenicilina, y la producción de la proteína expresada se induce por el crecimiento en un medio adecuado. Si está presente, la secuencia líder afectará la secreción del polipéptido quimérico maduro y se va a escindir durante la secreción. El polipéptido quimérico recombinante secretado se purifica a partir del medio de cultivo bacteriano mediante el método descrito en el presente documento.

Como alternativa, Los polipéptidos quiméricos pueden expresarse en un sistema de insecto. Los sistemas de insectos para la expresión de proteínas son bien conocidos por los expertos en la técnica. En uno de dichos sistemas, se usa el virus de la polihedrosis de *Autographa californica* (AcNPV) como vector para expresar genes extraños en células de *Spodoptera frugiperda* o en larvas de *Trichoplusia*. La secuencia de codificación del polipéptido quimérico se clona en una región no esencial del virus, tal como el gen de la polihedrina, y se coloca bajo el control del promotor de la polihedrina. La inserción satisfactoria de un polipéptido quimérico inactivará el gen y producirá un virus recombinante que carece de proteína de revestimiento. Los virus recombinantes se usan a continuación para infectar células de *S. frugiperda* o larvas de *Trichoplusia* en las que se expresa un polipéptido quimérico de la presente invención (Smith et al., 1983, J. Virol. 46:584; Engelhard et al., 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:3224-3227).

En otro ejemplo, la secuencia de ADN que codifica los polipéptidos quiméricos puede amplificarse mediante la PCR y clonarse en un vector adecuado, por ejemplo, pGEX-3X (Farmacia, Piscataway, Nueva Jersey). El vector pGEX se diseña para producir una proteína de fusión que comprende glutatión-S-transferasa (GST), codificada por el

vector, y una proteína codificada por un fragmento de ADN insertado en el sitio de clonación del vector. Pueden generarse cebadores de la PCR para incluir, por ejemplo, un sitio de escisión adecuado. La proteína de fusión recombinante puede escindirse a continuación de la porción GST de la proteína de fusión. La construcción del polipéptido quimérico pGEX-3X/ se transforma en células *E. coli* XL-1 Blue (Stratagene, La Jolla, California), y los transformantes individuales se aíslan y crecen a 37 °C en medio LB (suplementado con carbenicilina) a una densidad óptica para una longitud de onda a 600 nm de 0,4, seguido por incubación adicional durante 4 horas en la presencia de isopropil beta-D-tiogalactopiranosido 0,5 nM (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri). El ADN plásmido de transformantes individuales se purifica y se secuencia parcialmente utilizando un secuenciador automatizado para confirmar la presencia de la inserción que codifica el polipéptido quimérico deseado en la orientación adecuada.

La proteína de fusión, cuando se espera que se produzcan como un cuerpo de inclusión insoluble en las bacterias, puede purificarse como se ha descrito anteriormente o como sigue. Las células se recogieron mediante centrifugación; se lavaron en NaCl 0,15 M, Tris 10 mM, pH 8, EDTA 1 mM; y se trataron con 0,1 mg/ml de lisozima (Sigma Chemical Co.) durante 15 min. a TA. El lisado se clarificó mediante sonicación, y los residuos celulares se aglomeraron mediante centrifugación durante 10 min. a 12.000xg. El aglomerado que contenía la proteína de fusión se volvió a suspender en Tris 50 mM, pH 8, y EDTA 10 mM, se distribuyó en capas sobre glicerol al 50 %, y se centrifugó durante 30 min. a 6000xg. El aglomerado se volvió a suspender en solución salina tamponada con fosfato normalizada (PBS) exenta de Mg⁺⁺ y Ca⁺⁺. La proteína de fusión se purificó adicionalmente fraccionando el aglomerado resuspendido en gel de SDS poliacrilamida desnaturante (Sambrook et al., anteriormente citado). El gel se humedeció en KCl 0,4 M para visualizar la proteína, que se escindió y se electroeluyó en tampón de análisis en gel que carecía de SDS. Si la proteína de fusión del polipéptido quimérico/GST se produce en bacterias como proteína soluble, puede purificarse utilizando el módulo de purificación GST (Pharmacia Biotech).

La proteína de fusión puede someterse a digestión para escindir el GST del polipéptido quimérico maduro. La reacción de digestión (20-40 µg de proteína de fusión, 20-30 unidades de trombina humana (4000 U/mg (Sigma) en 0,5 ml de PBS) se incubó durante 16-48 h. a TA y se cargó en un gel SDS-PAGE desnaturante para fraccionar los productos de reacción. el gel se humedeció en KCl 0,4 M para visualizar las bandas de proteínas. Puede confirmarse la identidad de la banda de proteína que corresponde al peso molecular esperado del polipéptido quimérico mediante análisis parcial de la secuencia de aminoácidos utilizando un secuenciador automatizado (Applied Biosystems Modelo 473A, Foster City, California).

En un método particularmente ilustrativo de expresión recombinante de los polipéptidos quiméricos de la presente invención, las células 293 pueden transfectarse simultáneamente con plásmidos que contienen el ADNc de los polipéptidos quiméricos en el vector pCMV (promotor 5' del CMV, secuencia 3' HGH poli A) y pSV2neo (que contiene el gen de resistencia neo) mediante el método del fosfato de calcio. Los vectores pueden linealizarse con Scal antes de la transfección. De manera similar, se puede utilizar una construcción alternativa que utiliza un vector pCMV similar con el gen neo incorporado. Se seleccionan líneas de células estables a partir de clones de células individuales limitando la dilución en el medio de crecimiento que contiene 0,5 mg/ml de G418 (antibiótico análogo a neomicina) durante 10-14 días. Se seleccionaron líneas de células para la expresión de los polipéptidos quiméricos mediante ELISA o transferencia Western, y las líneas de células de alta expresión se expandieron para un crecimiento a gran escala.

Es preferible que las células transformadas se usen para la producción de proteína a largo plazo con alto rendimiento, y es deseable que esta dicha expresión sea estable. Una vez que dichas células se transforman con vectores que contienen marcadores seleccionables junto con el casete de expresión deseado, las células pueden dejarse crecer durante 1-2 días en un medio enriquecido antes de cambiarse a un medio selectivo. El marcador seleccionable se diseña para conferir resistencia a la selección, y su presencia permite el crecimiento y la recuperación de células que expresan satisfactoriamente las secuencias introducidas. Coágulos resistentes de células transformadas de forma estable pueden proliferar utilizando técnicas de cultivo de tejidos adecuadas para la célula.

Se pueden utilizar numerosos sistemas de selección para recuperar las células que se han transformado para la producción de proteína recombinante. Dichos sistemas de selección incluyen, aunque no de forma limitativa, timidina quinasa del VHS, genes de la hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa y adenina fosforribosiltransferasa, en células tk, hgprt o aprt, respectivamente. Además, se puede usar también la resistencia antimetabolito como base de la selección para dhfr, que confiere resistencia a metotrexato; gpt, que confiere resistencia al ácido micofenólico; neo, que confiere resistencia al aminoglicósido, G418; además, que confiere resistencia a clorsulfuron; e hygro, que confiere resistencia a la higromicina. Los genes seleccionables adicionales que pueden ser útiles incluyen trpB, que permite a las células utilizar indol en lugar de triptófano, o hisD, que permite a las células utilizar histinol en lugar de histidina. Los marcadores que proporcionan una indicación visual para la identificación de los transformantes incluyen antocianinas, betaglucuronidasa y su sustrato, GUS, y luciferasa y su sustrato, luciferina.

Los polipéptidos quiméricos de la presente divulgación pueden producirse utilizando una combinación de síntesis de péptidos automatizada y técnicas recombinantes. Por ejemplo, un polipéptido quimérico puede contener una combinación de modificaciones incluyendo delección, sustitución, inserción y derivatización mediante PEGilación (u otro resto, por ejemplo, polímero, cadena de acilo graso, amidación en el extremo C). Dicho polipéptido quimérico

puede producirse en etapas. En la primera etapa, un polipéptido quimérico intermedio que contiene las modificaciones de delección, sustitución, inserción, y cualquier combinación de los mismos, puede producirse mediante técnicas recombinantes como se describe. A continuación, después de una etapa de purificación opcional como se describe en el presente documento, el polipéptido quimérico intermedio se PEGila (o se somete a otra derivatización química, por ejemplo, acilación, amidación en el extremo C) a través de modificación química con un reactivo de PEGilación adecuado (por ejemplo, de NeKtar Transforming Therapeutics, San Carlos, California) para dar como resultado el derivado de polipéptido quimérico deseado. El experto en la técnica apreciará que el procedimiento anteriormente descrito puede generalizarse para aplicar un polipéptido quimérico que contiene una combinación de modificaciones seleccionadas entre delección, sustitución, inserción, derivatización, y otros medios de modificación bien conocidos en la materia y contemplados por la presente divulgación.

Los péptidos pueden purificarse mediante cualquiera de numerosos métodos conocidos en la materia, incluyendo como se describe en el presente documento. En un método, los péptidos se purifican mediante RP-HPLC (preparativa y analítica) usando un sistema Delta Prep 3000 de Waters. Una columna preparativa C4, C8 o C18 (10 m, 2,2X25 cm; Vydac, Hesperia, Calif.) puede utilizarse para aislar péptidos, y la pureza puede determinarse utilizando una columna analítica C4, C8 o C18 (5 m, 0,46X25 cm; Vydac). Se pueden suministrar disolventes (A= TFA al 0,1 % en agua y B= TFA al 0,1 % en CH₃CN) a la columna analítica a un caudal de 1,0 ml/min y a la columna preparativa a 15 ml/min. Se pueden llevar a cabo los análisis de aminoácidos en el sistema Waters Pico Tag y procesarse utilizando el programa Maxima. Los péptidos se pueden hidrolizar mediante hidrólisis ácida en fase vapor (115 °C, 20-24 h). Se pueden derivatizar los hidrolizados y analizarse mediante métodos normalizados (Cohen et al, THE PICO TAG METHOD: A MANUAL OF ADVANCED TECHNIQUES FOR AMINO ACID ANALYSIS, págs. 11-52, Millipore Corporation, Milford, Mass. (1989)). El método del bombardeo rápido de átomos se puede llevar a cabo mediante M-Scan, Incorporated (West Chester, Pa.). Se puede llevar a cabo la calibración de la masa utilizando yoduro de cesio o yoduro de cesio/glicerol. Se puede llevar a cabo el análisis de ionización por desorción de plasma utilizando la detección por tiempo de vuelo en un espectrómetro de masas Bio-Ion 20 de Applied Biosystems.

Ensayo de expresión de polipéptidos quiméricos.

Están disponibles métodos para evaluar el nivel de expresión de la proteína en un hospedador celular. Los procedimientos útiles para evaluar el nivel de expresión de la proteína en un hospedador celular se ilustran en el siguiente protocolo típico. Aproximadamente 25 µl de células BL21 *E. coli* se transformaron con 2 µl de ADN plásmido (vector de expresión del polinucleótido quimérico). Las células se pueden sembrar en placas e incubarse durante la noche a 37 grados C o a temperatura ambiente (TA) durante un periodo de 48 h. Se puede seleccionar una única colonia y utilizarse para el crecimiento del cultivo iniciador en 4 ml de medio LB con un antibiótico adecuado durante 6 h. Se pueden preparar soluciones madre de glicerol añadiendo 100 µl de glicerol estéril al 80 % a una solución madre de 900 µl, que se puede mezclar a continuación suavemente y almacenarse a -80 °C. Se puede retirar una muestra de 250 µl de la muestra de TCP no inducida. Una alícuota, por ejemplo, 2 ml de medio Magic que contiene un antibiótico adecuado con 5 µl de un cultivo iniciador, se puede a continuación incubar durante la noche (hasta 24 h) a 37 °C, 300 rpm. Como es conocido en la técnica, el medio Magic es autoinductor. Como alternativa, 60 µl de medio Magic que contiene un antibiótico adecuado se pueden inocular con 60 µl de un cultivo iniciador en un matraz Thompson de 250 ml o 125 ml, que se puede incubar a continuación durante la noche (hasta 24 h) a 30 °C, 300 rpm. Después de la incubación, se pueden retirar 250 µl del cultivo de cada tubo y aglomerarse las células. La célula se puede volver a suspender en 1 ml de Tris 50 mM pH 8, NaCl 150 mM, al cual se pueden añadir 0,1 volúmenes (100 µl) de reactivo de cultivo POP y 1 µl de r-lisozima (dilución 1:750 en tampón de r-lisozima). La mezcla se puede mezclar bien e incubarse al menos 10 min a TA. La preparación puede centrifugarse a continuación 10 min a 14000 x G. El sobrenadante se retirar (fracción soluble) y retenerse, y las muestras se pueden preparar para el análisis del gel (15 µl + 5 µl de LDS). El aglomerado de cuerpos de inclusión restante se puede volver a suspender en 1 ml de SDS al 1 % con sonicación. La muestra puede prepararse para el análisis del gel (15 µl + 5 µl de LDS). Para muestras no inducidas, se pueden añadir 1,0 volúmenes de reactivo de cultivo POP y 1 ml de r-lisozima (dilución 1:750 en tampón de r-lisozima). La mezcla se puede mezclar bien e incubarse al menos 10 min a TA. Estas muestras pueden no necesitar centrifugarse. A continuación, se puede preparar la muestra para el análisis del gel (15 µl + 5 µl de LDS). Se pueden analizar geles NU-PAGE (4-12 %) no reducidos en tampón 1XMES y teñirse con el protocolo microondas SimplyBlue. Se puede llevar a cabo el desteñido durante la noche, como se conoce en la materia. Se puede retener una imagen en gel, y analizarse para determinar los niveles de expresión de la proteína.

Preparación de cuerpos de inclusión.

Para los polipéptidos quiméricos que se encuentran en la fracción del cuerpo de inclusión, el siguiente procedimiento puede ser beneficioso. El aglomerado celular puede volverse a suspender en un mínimo de 100 ml de tampón de lisis para cada 50 ml de cultivo. Tras la adición de 30 ml, se puede usar una pipeta de 10 ml para resuspender, a continuación, el tubo se puede lavar con 70 ml más. La solución de células resuspendidas se puede analizar varias veces, por ejemplo, 4 pases, mediante un microfluidizador a 100 PSI (min) teniendo cuidado de mantener la cámara en agua helada durante el proceso completo. La suspensión fluidizada puede centrifugarse a 14000 x g, 20 min (por ejemplo., JLA 10,5, 10.000rpm, usando botellas Nalgene® de 250 ml). El aglomerado de cuerpos de inclusión puede resuspenderse en hiele en tampón de lisis enfriado con una barra agitadora y una placa de agitación durante 1 hora a 4 °C tras perturbación con la punta de la pipeta. El aglomerado puede resuspenderse una segunda vez en H₂O

destilada con una varilla agitadora y una placa de agitación durante 1 hora a 4 °C tras perturbación con una punta de pipeta, seguido por centrifugación a 14.000 x g, 15 min. El sobrenadante puede eliminarse y descartarse. El resultante puede almacenarse a -80 °C.

5 Purificación de proteínas.

Como se describe en el presente documento, se conocen numerosos métodos para el aislamiento de los polipéptidos expresados. Lo siguiente es un ejemplo. Se pueden solubilizar los aglomerados de los cuerpos de inclusión en un volumen adecuado de tampón de solubilización (urea 8 M o guanidina 8 M, Tris 50 mM, DTT 10 mM, pH 7,75) durante 1 hora a TA. Los aglomerados solubilizados pueden centrifugarse durante 20 min a 27.000 g. el sobrenadante filtrado (por ejemplo, 0,4 µm) puede transferirse gota a gota a un volumen adecuado de tampón de replegado (Tris-HCl 50 mM, urea 1 M, arginina 0,8 M, cisteína 4 mM, cistamina 1 mM; pH 8) a TA. El resultado puede a continuación colocarse a 4 °C durante la noche o más con un mezclado suave. Las muestras se pueden concentrar y analizarse sobre una columna de filtración en gel (Superdex™ 75 26/60) a 1-2 ml/min en un entorno a 4 °C utilizando un GE Healthsciences AKTAFPLC™. Se pueden identificar las fracciones que contienen la proteína adecuada mediante SDS-PAGE, combinarse y analizarse mediante una segunda columna de filtración en gel. La proteína combinada puede a continuación concentrarse en un filtro Amicon hasta una concentración adecuada y evaluarse para los niveles de endotoxina utilizando, por ejemplo, Endosafe® PTS Reader (Charles River), como se conoce en la materia. Una vez que una muestra de proteína ha pasado los criterios de la endotoxina, se puede esterilizar mediante filtración, dispensarse en alícuotas y analizarse mediante ensayos de control de calidad. Los ensayos de control de calidad pueden incluir HPLC-HEC analítica, SDS-PAGE no reductor y RP HLC-MS para obtener una masa aproximada. Las proteínas se pueden obtener en 1xPBS (cloruro de sodio 137 mM, cloruro de potasio 2,7 mM, fosfato disódico 4,3 mM, fosfato monopotásico 1,4 mM, pH 7,2), distribuido en alícuotas y congelado de forma ultrarrápida para el almacenamiento a -70 a -80 °C.

IV. Métodos de uso y tratamiento de indicaciones de enfermedad.

Se contempla que se van a tratar de forma beneficiosa varias enfermedades y trastornos mediante los compuestos polipeptídicos y los métodos descritos en el presente documento.

Obesidad y sobrepeso.

La obesidad y sus trastornos asociados que incluyen sobrepeso son problemas de salud pública comunes y graves en Estados Unidos y a nivel mundial. La obesidad en el cuerpo superior es el factor de riesgo más fuerte para la diabetes mellitus de tipo 2 y es un factor de riesgo fuerte para las enfermedades cardiovasculares. La obesidad es un factor de riesgo reconocido para la hipertensión, aterosclerosis, insuficiencia cardíaca congestiva, ictus, enfermedad de la vesícula, osteoartritis, apnea del sueño, trastornos reproductivos tales como el síndrome de ovarios poliquísticos, cánceres de mama, próstata, y colon, y una incidencia aumentada de complicaciones de la anestesia general. Véanse, por ejemplo, Kopelman, 2000, Nature 404:635-43.

La obesidad reduce la duración de la vida y conlleva un riesgo serio de comorbilidades relacionadas anteriormente, así como trastornos tales como infecciones, venas varicosas, acantosis nigricans, eccema, intolerancia al ejercicio, resistencia a la insulina, hipertensión, hipercolesterolemia, colestiasis, lesión ortopédica, y enfermedad tromboembólica. Véase, por ejemplo, Rissanen et al, 1990, Br. Med. J., 301:835-7. La obesidad es también un factor de riesgo para el grupo de dolencias denominadas síndrome de resistencia a la insulina, o "síndrome X" y síndrome metabólico. El coste médico en todo el mundo de la obesidad y los trastornos asociados es enorme.

La patogénesis de la obesidad se cree que es multifactorial. Un problema es que, en sujetos obesos, la disponibilidad de nutrientes y el gasto energético no están en equilibrio hasta que hay un exceso de tejido adiposo. El sistema nervioso central (SNC) controla el equilibrio de energía y coordina varias actividades conductuales, autonómicas y endocrinas adecuadas para el estado metabólico del animal. Los mecanismos o sistemas que controlan estas actividades están ampliamente distribuidos a través del cerebro anterior (por ejemplo, hipotálamo), rombencéfalo (por ejemplo, pedúnculo cerebral), y médula espinal. Finalmente, la información metabólica (es decir, la disponibilidad de combustible) y la información cognitiva (es decir, las preferencias de aprendizaje) procedente de estos sistemas se integra y la decisión de participar en comportamientos de apetito (buscar alimentos) y consumatorios (ingestión) bien se activan (adquisición e inicio de alimentos) o se desactivan (terminación de comidas). Se cree que el hipotálamo es principalmente responsable de integrar estas señales y a continuación de emitir órdenes al pedúnculo cerebral. Los núcleos del pedúnculo cerebral son los que controlan los elementos del sistema de control motor consumatorio (por ejemplo, los músculos responsables de la masticación y la deglución). De este modo, estos núcleos del SNC se han denominado literalmente constituyentes de la "ruta común final" del comportamiento ingestivo.

La evidencia neuroanatómica y farmacológica apoya la evidencia de que las señales de energía y la homeostasis nutricional se integran en los núcleos del cerebro anterior y que el sistema control motor consumatorio reside en los núcleos del pedúnculo cerebral, probablemente, en regiones que rodean el núcleo motor del trigémino. Existe una conexión recíproca extensa entre el hipotálamo y el pedúnculo cerebral. Varios agentes terapéuticos anti-obesidad

dirigidos contra el SNC (por ejemplo, pequeñas moléculas y péptidos) se centra predominantemente en los sustratos del cerebro anterior que residen en el hipotálamo y/o en los sustratos del rombencéfalo que residen en el pedúnculo cerebral.

- 5 La obesidad sigue siendo un trastorno metabólico poco tratable, crónica, esencialmente intratable. En consecuencia, existe una necesidad de nuevos tratamientos útiles en la reducción de peso y/o en el mantenimiento de peso de un sujeto. Dichos tratamientos conducirían a un efecto beneficioso profundo sobre la salud del sujeto. Los métodos y tratamientos que emplean los péptidos quiméricos divulgados en el presente documento, tanto solos como en combinación con otros agentes antiobesidad (véanse, por ejemplo, los documentos WO 2009064298 y US 20080207512) pueden proporcionar dichos efectos beneficiosos.

Deficiencia de leptina.

- 15 La deficiencia de leptina ha mostrado dar resultado en la obesidad. Una forma de deficiencia de leptina es la deficiencia de leptina congénita, un trastorno genético raro. Véase Montaque et al., 1997, Nature 387: 903-908. La deficiencia grave de leptina puede ser un resultado de una diabetes mellitus deficiente en insulina descontrolada que da como resultado la destrucción de células β secretoras de insulina. Se ha teorizado que la carencia de insulina conduce a la síntesis y al almacenamiento de triglicéridos en el tejido adiposo, que evita la ganancia de peso y a la vez reduce drásticamente los niveles de leptina plasmáticos debido a que la leptina se sintetiza en tejido adiposo.
- 20 Estas y otras deficiencias de leptina, y las enfermedades y trastornos que son el resultado de dichas deficiencias, se pueden tratar con tratamiento de sustitución de leptina, tal como con inyecciones diarias de leptina o inyecciones de agonistas de leptina. Los polipéptidos quiméricos descritos en el presente documento pueden proporcionar un tratamiento terapéutico más conveniente y ventajoso de dichas enfermedades y trastornos.

Diabetes y enfermedad cardiovascular.

- La diabetes mellitus se reconoce como una enfermedad crónica compleja, en la que del 60 % al 70 % de todos los decesos entre pacientes diabéticos son resultado de complicaciones cardiovasculares. La diabetes no se considera solo una enfermedad con un riesgo equivalente a una enfermedad cardíaca coronaria, sino que se identifica también como un predictor independiente de episodios adversos, incluyendo infarto de miocardio recurrente, insuficiencia cardíaca congestiva, y muerte tras un incidente cardiovascular. Se esperaría que adopción de un control más estricto de la glucosa y un tratamiento agresivo de los factores de riesgo cardiovasculares que redujeran el riesgo de complicaciones de enfermedad cardíaca coronaria y que mejorasen la supervivencia global entre los pacientes diabéticos. Sin embargo, los pacientes diabéticos tienen dos o tres veces más probabilidades de experimentar un infarto de miocardio agudo que los pacientes no diabéticos, y los pacientes diabéticos viven ocho a treinta años menos que los pacientes no diabéticos.

- Comprendiendo la naturaleza de alto riesgo de los pacientes diabéticos/con infarto de miocardio agudo, las directrices de práctica clínica de la American College of Cardiology/American Heart Association ("ACC/AHA") para la gestión de pacientes hospitalizados con angina inestable o infarto de miocardio sin elevación de ST (denominados en su conjunto "ACS") reconocieron recientemente que los pacientes diabéticos hospitalizados son una población especial que requiere una gestión agresiva de la hiperglucemia. Específicamente, las directrices indican que el tratamiento de disminución de la glucosa para pacientes diabéticos/ACS hospitalizados debe dirigirse a conseguir una glucosa preprandial menor de 10 mg/dl, un objetivo máximo diario de 180 mg/dl, y una hemoglobina A1c posterior a la descarga menor del 7 %.

- En una muestra nacional de pacientes de ACS de la tercera edad, se demostró que un aumento en la mortalidad a 30 días en pacientes diabéticos correspondió a los pacientes que tenían mayores valores de glucosa tras el ingreso en el hospital. Véase "Diabetic Coronary Artery Disease & Intervention", Coronary Therapeutics 2002, Oak Brook, IL, 20 de septiembre de 2002. Existe una evidencia creciente de que la hiperglucemia sostenida en lugar de la glucosa elevada transitoriamente tras el ingreso en el hospital está relacionada con episodios adversos graves. Aunque no se conoce fácilmente la medida ideal de la hiperglucemia y el riesgo vascular en pacientes, parece que el valor glucosa promedio durante la hospitalización es más predictivo de mortalidad. En un estudio diferente de pacientes con ACS procedentes de cuarenta hospitales de Estados Unidos, se descubrió que la hiperglucemia persistente, al contrario que los valores de glucosa aleatorios tras la admisión en el hospital, fue más predictiva de la mortalidad en el hospital. Véase Acute Coronary Syndrome Summit: A State of the Art Approach, Kansas City, MO, 21 de septiembre de 2002. En comparación con los valores de glucosa tras el ingreso, un modelo logístico de regresión del control de la glucosa sobre la hospitalización completa fue más predictivo de mortalidad. Hubo casi un riesgo aumentado de mortalidad de dos veces durante la hospitalización por cada 10 mg/dl de aumento en la glucosa sobre 120 mg/dl. En una cohorte más pequeña de pacientes diabéticos/de ACS consecutivos, hubo un aumento gradual de la mortalidad en un año con niveles de glucosa crecientes tras el ingreso en hospital. En el escenario del hospital, las directrices ACC/AHA sugieren el inicio de un tratamiento agresivo de insulina para conseguir menor glucosa en sangre durante la hospitalización.

- 65 Se ha notificado que la leptina puede tener un beneficio directo para tratar la diabetes, particularmente en la diabetes de tipo I y la diabetes de tipo II, con o sin la presencia de obesidad, y más concretamente en condiciones de bajo

contenido de leptina sérica. Se ha notificado que la recuperación de leptina redujo o evitó la hiperinsulinemia, la resistencia a la insulina y la hiperglucemia en diversos modelos animales de diabetes de tipo 1 y 2 con o sin obesidad acompañante. Por ejemplo, altos niveles de leptina en plasma generados bien por administración farmacológica de leptina o bien con un tratamiento génico adenovirico redujeron la hiperglucemia y los aumentos asociados de los niveles de glucagón en plasma en diabetes inducida por STZ, a pesar de niveles persistentemente bajos de insulina.

Enfermedades de regulación de lípidos.

Tal como es bien conocido en la técnica, la lipodistrofia se caracteriza por dolencias anómalas o degenerativas del tejido adiposo corporal. La dislipidemia es una perturbación en el componente lípido normal de la sangre. Se cree que la elevación prolongada de los niveles de insulina puede conducir a dislipidemia. La hiperlipidemia es la presencia de niveles aumentados o anómalos de lípidos y/o lipoproteínas en la sangre. La amenorrea hipotalámica es una dolencia en la que la menstruación se detiene durante algunos meses debido a un problema que implica el hipotálamo. Se ha descubierto que el tratamiento de sustitución de la leptina en mujeres con amenorrea hipotalámica mejora los aspectos de las hormonas de la reproducción, tiroides, y crecimiento, así como los marcadores de la formación ósea sin producir efectos adversos. Véase, por ejemplo, Oral et al., N Engl J Med. 2004, 351: 959-962, 987-997. La enfermedad del hígado graso, por ejemplo, la enfermedad del hígado graso no alcohólica (NAFLD) se refiere a una amplia gama de enfermedades hepáticas que varía desde un simple hígado graso (esteatosis), a esteatohepatitis no alcohólica (NASH), a cirrosis (irreversible, cicatrización avanzada del hígado). Todas las etapas de NAFLD tienen en común la acumulación de grasa (infiltración grasa) en las células del hígado (hepatocitos). Se cree que la leptina es uno de los reguladores clave para la inflamación y la progresión de la fibrosis en diversas enfermedades crónicas del hígado incluyendo NASH. Véase, por ejemplo, Ikejima et al., 2005, Hepatology Res. 33:151-154.

Además, sin desear quedar ligados a teoría alguna, se cree que la deficiencia relativa de insulina en la diabetes de tipo 2, la toxicidad de la glucosa, y una carga aumentada de ácido graso libre hepático a través de una administración elevada de tejido adiposo intraabdominal mediante la vena porta, están implicados como posibles causas en los trastornos de hígado graso. De hecho, Se ha teorizado que el comportamiento de ingesta es el factor clave que impulsa el síndrome metabólico de obesidad con sus muchos corolarios, incluido NASH. En consecuencia, los tratamientos destinados a disminuir la captación de alimentos y aumentar el número de comidas pequeñas, como se ha demostrado en la diabetes de tipo 2, puede tratar y evitar eficazmente NASH. Los fármacos que estimulan la secreción de insulina y la pérdida de peso, y que retrasan el vaciado gástrico son también eficaces para aumentar la tolerancia a la glucosa y de esta manera pueden mejorar el hígado graso con su correspondiente hiperinsulinemia. De esta manera, el uso de un polipéptido de leptina quimérica puede ser muy adecuado como una modalidad de tratamiento para esta dolencia. En consecuencia, los polipéptidos quiméricos descritos en el presente documento pueden ser útiles en el tratamiento de los trastornos del hígado graso.

Enfermedad de Alzheimer.

La enfermedad de Alzheimer (EA), como se conoce en la materia, se asocia con placas y ovillos en el cerebro que incluyen una desregulación de la proteína A-beta. Se cree que los lípidos cerebrales están implicados de forma compleja en las rutas A-beta patógenas, y que un modulador importante de la homeostasia de los lípidos es leptina. En consecuencia, la leptina puede modular la cinética A-beta bidireccional, reduciendo sus niveles extracelularmente. De hecho, se ha demostrado que la administración crónica de leptina a animales transgénicos-EA redujo la carga de A-beta cerebral subrayando su potencial terapéutico. Véase Fewlass et al., 2004, FASEB J., 18:1870-1878. Además, la diabetes mellitus de tipo 2 y la EA comparten características epidemiológicas y bioquímicas en que ambas se caracterizan por agregados de proteínas insolubles con una conformación fibrilar - amilina en los islotes pancreáticos de tipo 2 DM, y Ap en la EA cerebral. Sin desear quedar ligados a teoría alguna, se cree que mecanismos tóxicos similares pueden caracterizar la DM y la EA de tipo 2. Véase Lim et al., 2008, FEBS Lett., 582:2188-2194.

Síndrome metabólico X.

El síndrome metabólico X se caracteriza por resistencia a la insulina, dislipidemia, hipertensión, y distribución visceral de tejido adiposo, y juega un papel fundamental en la patofisiología de la diabetes de tipo 2. Se ha descubierto también que está fuertemente correlacionado con NASH, fibrosis, y cirrosis hepática. En consecuencia, los polipéptidos quiméricos descritos en el presente documento pueden ser útiles en el tratamiento del síndrome metabólico X.

Enfermedad de Huntington.

La enfermedad de Huntington es una enfermedad neurodegenerativa autosómica dominante. Las características de la enfermedad incluyen perturbaciones motoras, demencia, problemas psiquiátricos, y pérdida de peso no prevista. Los polipéptidos quiméricos descritos en el presente documento pueden ser útiles en el tratamiento de la enfermedad de Huntington.

En consecuencia, en un aspecto, se proporciona un método para tratar una enfermedad o trastorno en un sujeto. El sujeto necesita el tratamiento para la enfermedad o trastorno. La enfermedad o trastorno puede ser lipodistrofia, dislipidemia, hiperlipidemia, sobrepeso, obesidad, amenorrea hipotalámica, enfermedad de Alzheimer, deficiencia de leptina, enfermedad del hígado graso o diabetes (incluyendo de tipo I y tipo II). Las enfermedades y trastornos adicionales que se pueden tratar mediante los compuestos y métodos descritos en el presente documento incluyen la esteatohepatitis no alcohólica (NASH), enfermedad de hígado graso no alcohólica (NAFLD), síndrome metabólico X y enfermedad de Huntington. El método de tratamiento incluye la administración al sujeto de un polipéptido quimérico como se describe en el presente documento en una cantidad eficaz para el tratamiento de la enfermedad o trastorno.

V. Ensayos

Los métodos de producción y ensayo de polipéptidos quiméricos descritos en el presente documento están generalmente disponibles para el técnico experto. Además, se describen métodos específicos en el presente documento, así como en las publicaciones de patente y otras referencias citadas en el presente documento. **Ingesta de alimento.**

Sin desear quedar ligados a teoría alguna, se cree que la ingesta de alimentos es útil para evaluar la utilidad de un compuesto descrito en el presente documento. Por ejemplo, se sabe que numerosas patologías metabólicas están relacionadas con la ingesta de alimento (por ejemplo, diabetes, obesidad). En consecuencia, se puede realizar un cribado inicial para determinar la medida en la que la ingesta de alimentos está modulada por la administración de los compuestos descritos en el presente documento, y un cribado inicial positivo puede ser de utilidad en el desarrollo posterior de un compuesto.

Ensayos *in vitro*.

Sin desear quedar ligado a teoría alguna o mecanismo de acción, se cree que existe una correlación entre los resultados de los ensayos *in vitro* (por ejemplo, receptor), y la utilidad de los agentes para el tratamiento de enfermedades y trastornos metabólicos. En consecuencia, los ensayos *in vitro* (por ejemplo, ensayos celulares) son de utilidad como estrategia de cribado para agentes metabólicos potenciales, tal como se describe en el presente documento. Se conocen en la técnica varios ensayos *in vitro*, incluidos los descritos a continuación.

Ensayo de unión a leptina.

La unión a leptina se puede medir por la potencia de un compuesto de ensayo para desplazar ¹²⁵I-recombinante-Leptina (murino) de la superficie de la membrana que expresa el receptor quimérico de Leptina (Hu) - EPO (Mu) presentado mediante la línea de células 32D OBECA (J Biol Chem 1998; 273(29): 18365-18373). Se pueden preparar membranas celulares purificadas mediante la homogeneización a partir de cultivos celulares confluentes de células es 32D OBECA. Las membranas se pueden incubar con ¹²⁵I-rec-Murino-Leptina y concentraciones crecientes del compuesto de ensayo durante 3 horas a temperatura ambiente en placas de poliestireno de 96 pocillos. Las fracciones de ligando unidas y no unidas se pueden separar a continuación mediante filtración rápida en placas de 96 pocillos GF/B prebloqueadas al menos durante 60' en PE1 (polietileneimina) al 0,5 %. A continuación, las placas de fibra de vidrio de pueden secar, se añade el reactivo de centelleo, y se determinó el valor de CPM leyendo en un contador de centelleo multipocillo capaz de leer el yodo radio marcado.

Ensayo funcional de leptina.

Niveles crecientes de STAT5 fosforilado (transductor de señal y activador de la transcripción 5) se pueden medir después del tratamiento de células 32D-Keptin que expresan de forma ectópica el receptor quimérico Hu-Leptina/Mu-EPO con un compuesto de ensayo. Se puede extraer la leptina de células 32D-Keptin (idénticas a las células 32D-OBECA, pero mantenidas en cultivo con leptina) durante la noche y a continuación se pueden tratar con compuestos de ensayo en placas de 96 pocillos durante 30 minutos a 37 °C, seguido de extracción de las células. Los niveles de pSTAT5 en los lisados celulares se pueden determinar usando el kit de ensayo Perkin Elmer AlphaScreen® SureFire® pSTAT5 en un formato de 384 pocillos (Proxiplate™ 384 Plus). La eficacia de los compuestos de ensayo se puede determinar con respecto a la señal máxima de los lisados celulares procedentes de células tratadas con leptina humana.

VI. Composiciones farmacéuticas

En un aspecto, se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos descritos en el presente documento combinados junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, transportador). La expresión "transportador farmacéuticamente aceptable", tal como se usa en el presente documento, se refiere a excipientes farmacéuticos, por ejemplo, sustancias transportadoras farmacéutica y fisiológicamente aceptables, tanto orgánicas como inorgánicas, para aplicación enteral o parenteral que no deletéreamente que no reaccionen de forma perjudicial con el principio activo. Los transportadores farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen agua, soluciones salinas (por ejemplo, solución de Ringer y similares), alcoholes, aceites, gelatinas, o carbohidratos

tales como lactosa, amilosa o almidón, ésteres de ácido graso, hidroximetilcelulosa, y polivinilpirrolidina. Dichas preparaciones se pueden esterilizar y, si se desea, mezclarse con agentes auxiliares tales como lubricantes, conservantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, sales para variar la presión osmótica, tampones, colorantes, y/o sustancias aromáticas y similares que no reaccionen perjudicialmente con los polipéptidos de la invención.

A. Métodos

Los polipéptidos quiméricos descritos en el presente documento se pueden administrar solos o se pueden administrar conjuntamente a un sujeto. Se entiende que la coadministración incluye la administración simultánea o secuencial de los compuestos individualmente o en combinación (más de un compuesto). Por ejemplo, se ha descubierto que la obesidad se puede tratar ventajosamente con un tratamiento combinado que incluye una leptina (por ejemplo, metreleptina) y algunos otros compuestos contra la obesidad. Véase, por ejemplo, la solicitud publicada de Estados Unidos n.º 2008/0207512. En consecuencia, un polipéptido quimérico descrito en el presente documento podría ser útil para el tratamiento de la obesidad.

En las formulaciones y métodos descritos en el presente documento, el polipéptido quimérico se puede administrar simultáneamente con uno o más agentes antidiabéticos, tales como agentes hipoglicemiantes, por ejemplo, insulina, amilinas, pramlintida, metformina.

En las formulaciones y métodos descritos en el presente documento, el polipéptido quimérico se puede administrar simultáneamente con uno o más agentes que disminuyen el colesterol y/o los triglicéridos. Los agentes ilustrativos incluyen inhibidores de la HMG CoA reductasa (por ejemplo, atorvastatina, fluvastatina, lovastatina, pravastatina, rosuvastatina, simvastatina); secuestrantes de ácidos biliares (por ejemplo, colesevelam, colestiramina, colestipol); fibratos (por ejemplo, fenofibrato, clofibrato, gemfibrozilo); ezetimibe, ácido nicotínico, probucol, una combinación de lovastatina y niacina; una combinación de atorvastatina y mlodipina; y una combinación de simvastatina y ezetimiba.

Como alternativa, los polipéptidos quiméricos individuales se pueden administrar simultáneamente con otros agentes contra la obesidad, tales como exenatida o liraglutida.

La presente divulgación proporciona la composición para su uso como medicamento, es decir, para su uso en terapia, ya que el compuesto de leptina es una cantidad terapéuticamente activo. Las composiciones que comprenden un polipéptido quimérico, en forma tanto líquida como seca, y opcionalmente al menos un transportador o excipiente farmacéuticamente aceptable también se contemplan específicamente y se ilustran en el presente documento.

La administración simultánea se puede conseguir administrando por separado el polipéptido quimérico con el segundo agente, o mediante la administración de una sola formulación farmacéutica que comprende el polipéptido quimérico y el segundo agente. Los regímenes de dosificación adecuados para el segundo agente son generalmente conocidos en la técnica.

Las preparaciones también se pueden administrar simultáneamente, cuando se desee, con otros principios activos (por ejemplo, para reducir la degradación metabólica) como se conoce en la técnica o con otros principios terapéuticamente activos.

Amilinas. La amilina es una hormona peptídica sintetizada por las células β pancreáticas que se secreta junto con la insulina en respuesta a la ingestión de nutrientes. La secuencia de la amilina está fuertemente conservada entre especies de mamíferos, con similitudes estructurales al péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), las calcitoninas, las intermedinas, y la adrenomedulina, como se conoce en la materia. Las acciones glucorreguladoras de la amilina complementan las de la insulina regulando la tasa de aparición de la glucosa mediante la supresión de la secreción de glucagón estimulada por nutrientes y ralentizando el vaciado gástrico. En los pacientes con diabetes tratados con insulina, pramlintida, un análogo sintético y equipotente de la amilina humana, reduce las puntas de glucosa postprandial suprimiendo la secreción de glucagón postprandial anormalmente elevada y ralentizando el vaciado gástrico. Las secuencias de amilina de rata, amilina humana y pramlintida se indican a continuación:

amilina de rata: KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY (SEQ ID NO:86);

amilina humana: KCNTATCATQRLANFLVHSSNNFSGAILSSSTNVGSNTY (SEQ ID NO:87);

Pramlintida: KCNTATCATQRLANFLVHSSNNFGPILPPTNVGSNTY (SEQ ID NO:88).

Davalintida. Davalintida, también conocida como "AC-2307", es un potente agonista de la amilina útil en el tratamiento de varias indicaciones patológicas. Véanse los documentos WO 2006/083254 y WO 2007/114838. Davalintida es un polipéptido quimérico, que tiene una región de bucle en el extremo N como la de amilina o calcitonina y análogos de las mismas, una región de alfa hélice de al menos una parte de la región alfa helicoidal de la calcitonina o análogos de la misma o una región alfa helicoidal que tiene una porción de una región alfa helicoidal de amilina y una región alfa helicoidal de amilina o análogos de las mismas, y una región de cola en el extremo C de la amilina o calcitonina. Las secuencias de la calcitonina humana, calcitonina de salmón y davalintida se indican a

continuación:

calcitonina humana: CGNLSTC MLGTYTQDFNKFHTFPQTAIGVGAP (SEQ ID NO:89);
 calcitonina de salmón: CSNLSTCVLGKLSQELHKLQTYPRNTGSGTP (SEQ ID NO:90);
 5 davalintida: KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY (SEQ ID NO:91).

Sin desear quedar ligados a teoría alguna, se cree que las amilinas y davalintida, y fragmentos y análogos de las mismas, pueden necesitar una amidación del extremo C para suscitar una respuesta biológica completa. Se entiende que los compuestos de amilina como los descritos en el presente documento incluyen amilinas y/o davalintida, y fragmentos y análogos de las mismas, que se pueden amidar con el extremo C.

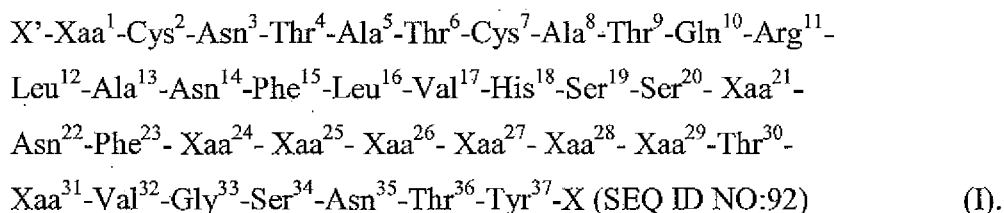
Los "compuestos agonistas de amilina" incluyen péptidos de amilina naturales, péptidos análogos de amilina, y otros compuestos (por ejemplo, moléculas pequeñas) que tienen actividad agonista de amilina. Los "compuestos agonistas de amilina" se pueden derivar de fuentes externas, pueden ser sintéticos, o se pueden derivar mediante técnicas de ADN recombinante. Los compuestos agonistas de amilina tienen actividad de unión al receptor agonista de amilina, y puede comprender aminoácidos (por ejemplo, naturales, no naturales, o una combinación de los mismos), miméticos de péptidos, restos químicos, y similares. El técnico experto reconocerá los compuestos agonistas de amilina mediante ensayos de unión al receptor de amilina o midiendo la actividad agonista de amilina en ensayos sobre el músculo soleo. En una realización, los compuestos agonistas de amilina tendrán un valor IC₅₀ de aproximadamente 200 nM o menos, aproximadamente 100 nM o menos, o aproximadamente 50 nM o menos, en un ensayo de unión al receptor de amilina, tal como se describe en el presente documento, en la patente de los Estados Unidos n.º 5.686.411, y la publicación de Estados Unidos n.º 2008/0176804. En una realización, los compuestos agonistas de amilina tendrán un valor CE₅₀ de aproximadamente 20 nM o menos, aproximadamente 15 nM o menos, aproximadamente 10 nM o menos, o aproximadamente 5 nM o menos en un ensayo en el músculo soleo, tal como se describe en el presente documento y en la patente de Estados Unidos n.º 5.686.411. En una realización, el compuesto agonista de amilina tiene al menos un 90 % o un 100 % de identidad de secuencia con la 25,28,29 Proamilina humana. En una realización, el compuesto agonista de amilina es una quimera peptídica de amilina (por ejemplo, amilina humana, amilina de rata, y similar) y calcitonina (por ejemplo, calcitonina humana, calcitonina de salmón, y similares). Los compuestos agonistas de amilina adecuados e ilustrativos también se describen en la publicación de Estados Unidos n.º 2008/0274952.

Por "análogo de amilina" tal como se usa en el presente documento se entiende, se entiende un agonista de amilina que tiene al menos un 50 % de identidad de secuencia, preferentemente al menos un 70 % de identidad de secuencia, con una forma natural de la amilina, tanto de rata o ser humano o de cualquier otra especie, y se deriva de los mismos mediante modificaciones que incluyen inserciones, sustituciones, extensiones, y/o deleciones de la secuencia de aminoácidos de referencia.

La secuencia análoga de amilina puede tener al menos el 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 90 %, o 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos con la amilina de referencia. En un aspecto, el análogo tiene 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o incluso 16 sustituciones, inserciones, extensiones y/o deleciones de aminoácidos con respecto al compuesto de referencia. En una realización, el análogo de amilina puede comprender sustituciones de aminoácidos conservativas o no conservativas (incluyendo los aminoácidos no naturales y las formas L y D). Estos análogos son preferentemente péptidos, derivados de péptidos o miméticos de péptidos. Los análogos de amilina típicos serán péptidos, especialmente de 32-37 aminoácidos, por ejemplo, 27 a 45, especialmente 28 a 38, e incluso 31-36.

Los análogos de amilina con identidad con la amilina de rata y ser humano incluyen 25,28,29 Pro-h-amilina (pramlintida); des-¹Lys-h-amilina; ²⁵Pro,²⁶Val,^{28,29}Pro-h-amilina; ¹⁸Arg,^{25,28}Pro-h-amilina; des-¹Lys,¹⁸Arg,^{25,28}Pro-h-amilina; ¹⁸Arg,^{25,28,29}Pro-h-amilina; des-¹Lys,¹⁸Arg,^{25,28,29}Pro-h-amilina; des-¹Lys,¹⁸Arg,^{25,28,29}Pro-h-amilina; ²⁵Pro,²⁶Val,^{28,29}Pro-h-amilina; ²⁸Pro-h-amilina; 2,7-Ciclo-[²Asp,⁷Lys]-h-amilina; ²⁻³⁷h-amilina; ¹Ala-h-amilina; ²Ala-h-amilina; ^{2,7}Ala-h-amilina; ¹Ser-h-amilina; ²⁹Pro-h-amilina; ^{25,28}Pro-h-amilina; des-¹Lys,^{25,28}Pro-h-amilina; ²³Leu,²⁵Pro,²⁶Val,^{28,29}Pro-h-amilina; ²³Leu,²⁵Pro,²⁶Val,^{28,29}Pro-h-amilina; des-¹Lys,²³Leu,²⁵Pro,²⁶Val,^{28,29}Pro-h-amilina; ¹⁸Arg,²³Leu,²⁵Pro,²⁶Val,^{28,29}Pro-h-amilina; ¹⁸Arg,²³Leu,^{25,28,29}Pro-h-amilina; ¹⁸Arg,²³Leu,^{25,28,29}Pro-h-amilina; ¹⁷Ile,²³Leu,^{25,28,29}Pro-h-amilina; ¹⁷Ile,^{25,28,29}Pro-h-amilina; des-¹Lys,¹⁷Ile,²³Leu,^{25,28,29}Pro-h-amilina; ¹⁷Ile,¹⁸Arg,²³Leu-h-amilina; ¹⁷Ile,¹⁸Arg,²³Leu,²⁵Pro,²⁶Val,^{28,29}Pro-h-amilina; ¹⁷Ile,¹⁸Arg,²³Leu,²⁵Pro,²⁶Val,^{28,29}Pro-h-amilina; ¹³Thr,²¹His,²³Leu,²⁶Ala,²⁹Pro,³¹Asp-h-amilina; ¹³Thr,²¹His,²³Leu,²⁶Ala,²⁹Pro,³¹Asp-h-amilina; des-¹Lys,¹³Thr,²¹His,²³Leu,²⁶Ala,²⁸Pro,³¹Asp-h-amilina; ¹³Thr,¹⁸Arg,²¹His,²³Leu,²⁶Ala,²⁹Pro,³¹Asp-h-amilina; ¹³Thr,¹⁸Arg,²¹His,²³Leu,^{28,29}Pro,³¹Asp-h-amilina; and ¹³Thr,¹⁸Arg,²¹His,²³Leu,²⁵Pro,²⁶Ala,^{28,29}Pro,³¹Asp-h-amilina.

Los análogos de amilina incluyen secuencias de aminoácidos de los restos 1-37 de la Fórmula (I) siguiente, en la que hasta el 25 % de los aminoácidos definidos en la Fórmula (I) se pueden eliminar o sustituir por un aminoácido diferente:



En la Fórmula (I), X' es hidrógeno, un grupo protector del extremo N, o un enlazador a un resto potenciador de la duración. Xaa¹ es Lys o un enlace, Xaa²¹ es Lys, Cys, o Asn, Xaa²⁴ es Lys, Cys, o Gly, Xaa²⁵ es Lys, Cys, o Pro, Xaa²⁶ es Lys, Cys, o Ile, Xaa²⁷ es Lys, Cys, o Leu, Xaa²⁸ es Lys, Cys, o Pro, Xaa²⁹ es Lys, Cys, o Pro y Xaa³¹ es Lys, Cys, o Asn. Adicionalmente en relación con la Fórmula (I), la variable X representa una funcionalidad del extremo C (por ejemplo, una protección del extremo C). X es amino sustituido o no sustituido, alquilamino sustituido o no sustituido, dialquilamino sustituido o no sustituido, cicloalquilamino sustituido o no sustituido, arilamino sustituido o no sustituido, aralquilamino sustituido o no sustituido, alquiloxi sustituido o no sustituido, ariloxi sustituido o no sustituido, aralquiloxi sustituido o no sustituido, o hidroxilo. Si el extremo C del componente polipeptídico con la secuencia de los restos 1-37 de Fórmula (I) está protegido con una funcionalidad X, entonces X es preferentemente amina formando de esta forma una amida en el extremo C. Por ejemplo, hasta un 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 % o incluso el 50 % de los aminoácidos de los restos 1-37 de la Fórmula (I) están eliminados o sustituidos en un componente polipeptídico de acuerdo con la fórmula (I). El componente análogo de amilina puede tener 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o incluso 16 sustituciones de aminoácidos con respecto a la secuencia de aminoácidos definida en la Fórmula (I). El análogo de amilina puede tener una secuencia que tiene una identidad de secuencia definida con respecto a los restos 1-37 de la secuencia de aminoácidos de acuerdo con la Fórmula (I). Por ejemplo, la identidad de secuencia entre un análogo de amilina descrito en este documento y los restos 1-37 de la Fórmula (I) es un 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o incluso mayor. Por ejemplo, hasta un 50 %, 45 %, 40 %, 35 %, 30 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 5 % o incluso menos de los aminoácidos definidos en los restos 1-37 de la Fórmula (I) pueden estar eliminados o sustituidos por un aminoácido diferente. Por ejemplo, la identidad de secuencia está comprendida en el intervalo de 75 %-100 %, en el intervalo de 75 %-90 %, en el intervalo de 80 %-90 %, o al menos del 75 %. Por ejemplo, el análogo de amilina tiene la secuencia de los restos 1-37 de la Fórmula (I).

Los análogos de amilina incluidos los de la Fórmula (I) pueden formar la base de un componente polipeptídico al que se pueden unir uno o más restos potenciadores de la duración, opcionalmente mediante un enlazador, para formar un conjugado de amilina polipeptídico. De esta manera, el componente polipeptídico sirve como molde ("molde de polipéptido") al que se unen, preferentemente mediante unión covalente, uno o más restos potenciadores de la duración. La unión del resto potenciador de la duración al componente polipeptídico se puede realizar mediante un enlazador como se describe en el presente documento. Como alternativa, la unión del resto potenciador de la duración al componente polipeptídico se puede realizar mediante un enlace covalente directo. El resto potenciador de la duración puede ser un polímero soluble en agua tal como se describe en el presente documento. Una pluralidad de restos potenciadores de la duración se puede unir al componente polipeptídico, en cuyo caso, cada enlazador al que se une cada resto potenciador de la duración se selecciona independientemente entre los enlazadores descritos en el presente documento.

Los análogos de amilina útiles como componentes polipeptídicos descritos en el presente documento incluyen, aunque no de forma limitativa, los compuestos definidos en los restos 1-37 de Fórmula (I) proporcionados en la Tabla 1 siguiente. Salvo que se indique otra cosa, todos los péptidos descritos en el presente documento, incluidos los péptidos cuya secuencia se ha proporcionado de forma expresa, se contemplan tanto en su forma de carboxilato libre como en su forma amidada.

Tabla 1. Polipéptidos componentes de utilidad en los compuestos descritos en el presente documento.

Comp.	Descripción (secuencia)
1	KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY-NH2 (SEQ ID NO:88)
2	CNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY-NH2 (SEQ ID NO:93) ([desLys ¹]-Comp. 1)
3	KCNTATCATQRLANFLVRSSKNLGPVLPPTNVGSNTY-NH2 (SEQ ID NO:94)
4	CNTATCATQRLANFLVRSSKNLGPVLPPTNVGSNTY-NH2 (SEQ ID NO:95) ([desLys ¹]-Comp. 3)
5	KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY-NH2 (SEQ ID NO:96)
6	CNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY-NH2 (SEQ ID NO:97) ([desLys ¹]-Comp. 5)
7	KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTKVGNTY-NH2 (SEQ ID NO:98)
8	CNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTKVGNTY-NH2 (SEQ ID NO:99) ([desLys ¹]-Comp. 7)
9	KCNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILPPTNVGSNTY-NH2 (SEQ ID NO:100)
10	CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILPPTNVGSNTY-NH2 (SEQ ID NO:101) ([desLys ¹]-Comp. 9)
11	CNTATCATQRLANFLVHSSKNGPILPPTNVGSNTY-NH2 (SEQ ID NO:102)
12	CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILPPTNVGSNTY-NH2 (SEQ ID NO:103)

13	CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILPPTKVGSNNTY-NH2 (SEQ ID NO:104)
14	CNTATCATQRLANFLVHSSNFKPILPPTNVGSNTY-NH2 (SEQ ID NO:105)
15	CNTATCATQRLANFLVHSSNFGKILPPTNVGSNTY-NH2 (SEQ ID NO:106)
16	CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPIKPPTNVGSNTY-NH2 (SEQ ID NO:107)
17	CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILKPTNVGSNTY-NH2 (SEQ ID NO:108)
18	CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILKPTNVGSNTY-NH2 (SEQ ID NO:109)

- Los términos "enlazador" y similares, en el contexto de la unión de restos potenciadores de la duración a un componente polipeptídico en un conjugado de amilina polipeptídico descrito en el presente documento, significa una especie divalente (-L-) unida covalentemente a su vez a un componente polipeptídico que tiene una valencia disponible para la unión, y a un resto potenciador de la duración que tiene una valencia disponible para la unión. El sitio de unión disponible en el componente polipeptídico es convenientemente la cadena lateral de un resto (por ejemplo, lisina, cisteína, ácido aspártico, y homólogos de los mismos). El sitio de unión disponible sobre el componente polipeptídico puede estar en la cadena secundaria de una lisina o en un resto cisteína. Por ejemplo, el sitio de unión disponible sobre el componente polipeptídico se puede seleccionar entre amina del extremo N, carboxilo del extremo C y un átomo de la cadena principal del componente polipeptídico. Tal como se usa en el presente documento, la expresión "resto de aminoácido enlazador" significa un resto de aminoácido comprendido entre los restos 1-37 de Fórmula (I) al que se une un resto potenciador de la duración, opcionalmente mediante un enlazador.
- Además, se describen en el presente documento compuestos que tienen un enlazador unido covalentemente a un componente polipeptídico con un resto potenciador de la duración. El enlazador es opcional; es decir, cualquier enlazador puede ser simplemente un enlace. El enlazador se puede unir a una cadena lateral del componente polipeptídico o a un átomo de la cadena principal del componente polipeptídico.
- En otro aspecto, se proporciona un conjugado de amilina polipeptídico, que es un derivado de pramlintida con la SEQ ID NO:88 o un análogo del mismo, en el que el resto de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y un resto de aminoácido en la posición 2 a 37 se ha sustituido por un resto de lisina o un resto de cisteína y en el que dicho resto de lisina o resto cisteína está unido a un polímero de polietilenglicol, opcionalmente mediante un enlazador, en el que la numeración de los aminoácidos sigue la numeración de aminoácidos de la SEQ ID NO:88.
- En otro aspecto, la divulgación se refiere a un conjugado de amilina polipeptídico, que es un derivado de pramlintida con la SEQ ID NO:88 o un análogo del mismo, en el que el resto de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en el que un resto de aminoácido en una cualquiera de la posición 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 31, 32, 33, 34, 35, 36, o 37 está sustituido por un resto de lisina y en el que dicho resto de lisina está unido a un polímero de polietilenglicol, opcionalmente mediante un enlazador.
- En otro aspecto, la divulgación se refiere a un conjugado de amilina polipeptídico, que es un derivado de pramlintida con la SEQ ID NO:88 o un análogo del mismo, en el que el resto de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en el que un resto de aminoácido en una cualquiera de la posición 21, 24-29, o 31 está sustituido por un resto de lisina y en el que dicho resto de lisina está unido a un polímero de polietilenglicol, opcionalmente mediante un enlazador.
- En otro aspecto, la divulgación se refiere a un conjugado de amilina polipeptídico, que es un derivado de pramlintida con la SEQ ID NO:88 o un análogo del mismo, en el que el resto de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en el que un resto de aminoácido en la posición 21 está sustituido por un resto de lisina y en el que dicho resto de lisina está unido a un polímero de polietilenglicol, opcionalmente mediante un enlazador.
- En otro aspecto, la divulgación se refiere a un conjugado de amilina polipeptídico, que es un derivado de pramlintida con la SEQ ID NO:88 o un análogo del mismo, en el que el resto de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en el que un resto de aminoácido en la posición 24 está sustituido por un resto de lisina y en el que dicho resto de lisina está unido a un polímero de polietilenglicol, opcionalmente mediante un enlazador.
- En otro aspecto, la divulgación se refiere a un conjugado de amilina polipeptídico, que es un derivado de pramlintida con la SEQ ID NO:88 o un análogo del mismo, en el que el resto de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en el que un resto de aminoácido en la posición 25 está sustituido por un resto de lisina y en el que dicho resto de lisina está unido a un polímero de polietilenglicol, opcionalmente mediante un enlazador.
- En otro aspecto, la divulgación se refiere a un conjugado de amilina polipeptídico, que es un derivado de pramlintida con la SEQ ID NO:88 o un análogo del mismo, en el que el resto de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en el que un resto de aminoácido en la posición 26 está sustituido por un resto de lisina y en el que dicho resto de lisina está unido a un polímero de polietilenglicol, opcionalmente mediante un enlazador.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a un conjugado de amilina polipeptídico, que es un derivado de pramlintida con la SEQ ID NO:88 o un análogo del mismo, en el que el resto de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en el que un resto de aminoácido en la posición 27 está sustituido por un resto de lisina y en el que dicho resto de lisina está unido a un polímero de polietilenglicol, opcionalmente mediante un enlazador.

5 En otro aspecto, la divulgación se refiere a un conjugado de amilina polipeptídico, que es un derivado de pramlintida con la SEQ ID NO:88 o un análogo del mismo, en el que el resto de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en el que un resto de aminoácido en la posición 28 está sustituido por un resto de lisina y en el que dicho resto de lisina está unido a un polímero de polietilenglicol, opcionalmente mediante un enlazador.

10 En otro aspecto, la divulgación se refiere a un conjugado de amilina polipeptídico, que es un derivado de pramlintida con la SEQ ID NO:88 o un análogo del mismo, en el que el resto de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en el que un resto de aminoácido en la posición 29 está sustituido por un resto de lisina y en el que dicho resto de lisina está unido a un polímero de polietilenglicol, opcionalmente mediante un enlazador.

15 En otro aspecto, la divulgación se refiere a un conjugado de amilina polipeptídico, que es un derivado de pramlintida con la SEQ ID NO:88 o un análogo del mismo, en el que el resto de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en el que un resto de aminoácido en la posición 31 está sustituido por un resto de lisina y en el que dicho resto de lisina está unido a un polímero de polietilenglicol, opcionalmente mediante un enlazador.

20 El resto potenciador de la duración puede ser un polímero soluble en agua. Un "polímero soluble en agua" significa un polímero que es lo suficientemente soluble en agua en condiciones fisiológicas de, por ejemplo, temperatura, concentración iónica y similares, como se conoce en la materia, para ser de utilidad en los métodos descritos en el presente documento. Un polímero soluble en agua puede aumentar la solubilidad de un péptido u otra biomolécula a
25 que se une dicho polímero soluble en agua. De hecho, dicha unión se ha propuesto como medio de mejorar la vida en circulación, la solubilidad en agua y/o la antigenicidad de proteínas administradas, *in vivo*. Véanse, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos n.º 4.179.337; la solicitud publicada de Estados Unidos n.º 2008/0032408. Se han usado varios polímeros solubles en agua y químicas de unión para conseguir esta meta, tal como polietilenglicol, copolímeros de etilenglicol/propilenglicol, carboximetilcelulosa, dextrano, poli(alcohol vinílico), polivinilpirrolidona, poli-1,3-dioxolano, poli-1,3,6-trioxano, copolímero de etileno/anhídrido málico, poliaminoácidos (tanto homopolímeros como copolímeros aleatorios), y similares.

35 El resto potenciador de la duración unido puede incluir un polietilenglicol. El polietilenglicol ("PEG") se ha usado en intentos de obtener polipéptidos de utilidad terapéutica. Véanse, por ejemplo, Zalipsky, S., 1995, *Bioconjugate Chemistry*, 6:150-165; Mehvar, R., 2000, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 3:125-136. Como apreciará el experto en la técnica, la cadena principal de PEG [(CH₂CH₂-O)_n, n: número de monómeros de repetición] es flexible y anfifílica. Sin desear quedar ligado a teoría alguna o mecanismo de acción, se cree que una molécula o resto larga similar a PEG queda fuertemente hidratada y en rápido movimiento cuando se encuentra en un medio acuoso. Se cree que este movimiento rápido hace que el PEG rellene un volumen elevado y evite la aproximación e interferencia de otras
40 moléculas. Como resultado, cuando se une a otra entidad química (como un péptido), las cadenas de polímero PEG pueden proteger dicha entidad química de la respuesta inmunitaria y otros mecanismos de aclaramiento. Como resultado, la pegilación puede llevar a mejorar la eficacia y la seguridad de los fármacos mediante la optimización de la farmacocinética, biodisponibilidad aumentada, y una menor inmunogenicidad y frecuencia de dosificación. "Pegilación" se refiere en el sentido habitual a la conjugación de un resto PEG con otro compuesto. Por ejemplo, se
45 ha demostrado que la unión de PEG proteger las proteínas contra la proteólisis. Véanse, por ejemplo, Blomhoff, H. K. et al., 1983, *Biochim Biophys Acta*, 757:202-208. Salvo que se indique otra cosa de forma expresa, los términos "PEG", "polímero de polietilenglicol" y similares se refieren a un polímero de polietilenglicol y derivados de los mismos, incluido metoxi-PEG (mPEG).

50 Se ha usado varios medios para unir los restos de polímero tales como PEG y polímeros relacionados a los grupos reactivos que se encuentran en la proteína. Véanse, por ejemplo, la patente de Estados Unidos n.º 4.179.337; la patente de Estados Unidos n.º 4.002.531; Abuchowski et al., 1981, en "Enzymes as Drugs," J. S. Holcberg y J. Roberts, (Eds.), págs. 367-383; Zalipsky, S., 1995, *Bioconjugate Chemistry*, 6:150-165. Se ha descrito el uso de PEG y otros polímeros para modificar las proteínas. Véanse por ejemplo, Cheng, T.-L. et al., 1999m, *Bioconjugate Chem.*, 10:520-528; Belcheva, N. et al., 1999, *Bioconjugate Chem.*, 10:932-937; Bettinger, T. et al., 1998, *Bioconjugate Chem.*, 9:842-846; Huang, S.-Y. et al., 1998, *Bioconjugate Chem.*, 9:612-617; Xu, B. et al. 1998, *Langmuir*, 13:2447-2456; Schwarz, J. B. et al., 1999, *J. Amer. Chem. Soc.*, 121:2662-2673; Reuter, J. D. et al., 1999, *Bioconjugate Chem.*, 10:271-278; Chan, T.-H. et al., 1997, *J. Org. Chem.*, 62:3500-3504. Los sitios de unión típicos en proteínas incluyen grupos amino primarios, tales como los que se encuentran en restos de lisina o en el extremo
60 N, grupos tiol, tales como los que se encuentran en cadenas laterales de cisteína, y grupos carboxilo, tales como los que se encuentran en los restos de glutamato o aspartato del extremo C. Los sitios habituales de unión son los restos azúcar de las glicoproteínas, cisteínas o en el extremo N y las lisinas del polipéptido diana. Los términos "pegilado" y similares se refieren a la unión covalente de polietilenglicol a un polipéptido u otra biomolécula, opcionalmente mediante un enlazador como se describe en el presente documento y/o se conoce en la técnica.

65 Un resto PEG en un conjugado de amilina polipeptídico descrito en el presente documento puede tener un peso

molecular nominal comprendido en un intervalo especificado. Como es de uso habitual en la materia, el tamaño del resto de PEG se indica por la referencia el peso molecular nominal, que se proporciona de forma típica en kilodaltons (kD). El peso molecular se calcula en varias maneras conocidas en la materia, que incluye el número, peso, viscosidad y peso molecular promedio "Z". Se entiende que los polímeros, tales como PEG y similares, existen como una distribución de peso moleculares alrededor de un valor promedio nominal.

Ilustrativos de la terminología para el peso molecular de los PEG, el término "mPEG40KD" se refiere a un polímero de metoxipolietilenglicol que tiene un peso molecular nominal de 40 kilodaltons. La referencia a los PEG de otros pesos moleculares sigue esta convención. Por ejemplo, el resto PEG tiene un peso molecular nominal en el intervalo de 10-100 KD, 20-80 KD, 20-60 KD, o 20-40 KD; o el resto PEG tiene un peso molecular nominal de 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o incluso 100 KD. Preferentemente, el resto PEG tiene un peso molecular de 20, 25, 30, 40, 60 o 80 KD.

Las moléculas de PEG útiles para la derivatización de los polipéptidos se suelen clasificar de forma típica en tipos lineales, ramificados y de Warwick (es decir, PolyPEG®) de PEG, como se conoce en la materia. Salvo que se indique otra cosa de forma expresa, los restos de PEG descritos en el presente documento son PEG lineales. Además, las expresiones "dos brazos ramificados" "forma de Y" y el enlazador se refieren a restos PEG ramificados, como se conoce en la materia. El término "Warwick" en el contexto de los PEG, también se conoce como PEG "comb" o "tipo comb", se refiere a varios PEG multibrazo unido a una cadena principal, normalmente de polimetacrilato, como se conoce en la materia. Con respecto a la nomenclatura incluidas las convenciones empleadas en la tabla proporcionada en el presente documento, en ausencia de indicación de lo contrario, un resto PEG está unido a la cadena principal del péptido. Por ejemplo, el **Comp. 19** es el resultado de la conjugación del mPEG40KD con el átomo de nitrógeno del extremo N del **Comp. 1**. De manera similar, el **Comp. 20** es el resultado de la conjugación del mPEG40KD con el átomo de nitrógeno del extremo N del **Comp. 2**. Se pueden usar las abreviaturas convencionales para aminoácidos de una sola letra, así como las abreviaturas convencionales de tres letras. Por ejemplo, el **Comp. 24** es un análogo del **Comp. 10** en el que el resto en la posición 26 del **Comp. 9** está sustituir por lisina, y la funcionalidad amina colgante de la lisina 26 (es decir, K²⁶) está conjugada con un resto PEG40KD. Los compuestos ilustrativos se proporcionan en la Tabla 2 siguiente.

Tabla 2. Compuestos pegilados

Comp.	Descripción
19	mPEG40KD- Comp. 1
20	mPEG40KD- Comp. 2
21	[K21(mPEG40KD)]-Comp. 3
22	[K21(mPEG40KD)]-Comp. 4
23	[K26(mPEG40KD)]-Comp. 5
24	[K26(mPEG40KD)]-Comp. 6
25	[K31(mPEG40KD)]-Comp. 7
26	[K31(mPEG40KD)]-Comp. 8
27	[K26(forma Y-mPEG40KD)]-Comp. 5
28	[K21(mPEG40KD)]-Comp. 11
29	[K26(mPEG40KD)]-Comp. 12
30	[K31(mPEG40KD)]-Comp. 13
31	[K26(forma Y-mPEG40KD)]-Comp. 12
32	[K24(mPEG40KD)]-Comp. 14
33	[K25(mPEG40KD)]-Comp. 15
34	[K27(mPEG40KD)]-Comp. 16
35	[K28(mPEG40KD)]-Comp. 17
36	[K29(mPEG40KD)]-Comp. 18

B. Formulaciones

Los polipéptidos farmacéuticos de la invención se pueden formular con transportadores o diluyentes farmacéuticamente aceptables, así como otros adyuvantes y excipientes conocidos de acuerdo con técnicas convencionales como las divulgadas en Remington's Pharmaceutical Sciences de E. W. Martin. Véanse también Wang et al. (1988) J. of Parenteral Sci. and Tech., Informe técnico n.º 10, Supl. 42:2 S.

En general, los polipéptidos quiméricos se pueden formular en una composición farmacéutica estable y segura para su administración a un paciente. Las formulaciones farmacéuticas contempladas para un uso médico de acuerdo con la invención pueden comprender de aproximadamente 0,01 al 1,0 % (p/v), en algunos casos del 0,05 al 1,0 %, del polipéptido quimérico, aproximadamente de 0,02 al 0,5 % (p/v) de un tampón acetato, fosfato, citrato o glutamato que permita un pH para la composición final de aproximadamente 3,0 a aproximadamente 7,0; de aproximadamente 1,0 al 10 % (p/v) de un tónico de carbohidrato o de alcohol polihidroxilado y, opcionalmente, de aproximadamente 0,005 al 1,0 % (p/v) de un conservante seleccionado entre el grupo que consiste en m-cresol, alcohol bencílico, metilo, etilo, propil y butil parabenos y fenol. Dicho conservante se incluye de manera general si el

péptido formulado va a incluirse en un producto de uso múltiple.

En determinadas realizaciones, una formulación farmacéutica de los presentes polipéptidos quiméricos puede contener una gama de concentraciones del uno o más compuestos, por ejemplo, entre aproximadamente 0,01 % y aproximadamente un 98 % p/p, o entre aproximadamente 1 y aproximadamente 98 % p/p, o preferentemente entre 80 % y 90 % p/p, o preferentemente entre aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 50 % p/p, o más preferentemente entre aproximadamente 10 % y aproximadamente 25 % p/p en estas realizaciones. Se puede usar una cantidad de agua para inyección suficiente para obtener la concentración deseada de solución.

También pueden estar presentes agentes de tonicidad adicionales, tales como cloruro de sodio, así como otros excipientes conocidos, si se desea. En algunos casos, dichos excipientes son útiles para mantener la tonicidad general del compuesto. Un excipiente se puede incluir en las formulaciones descritas actualmente en diversas concentraciones. Por ejemplo, un excipiente se puede incluir en un intervalo de concentración de aproximadamente 0,02 % a aproximadamente 20 % p/p, preferentemente entre aproximadamente 0,02 % y aproximadamente 0,5 % p/p, de aproximadamente 0,02 % a aproximadamente un 10 % p/p, o de aproximadamente 1 % a aproximadamente 20 % p/p. Además, análogamente a las propias formulaciones presentes, un excipiente se puede incluir en forma sólida (incluido en forma pulverulenta), líquida, semisólida, o en forma de gel.

Las formulaciones farmacéuticas pueden estar compuestas de varias formas, por ejemplo, sólida, líquida, semisólida o líquida. El término "sólido", como se usa en el presente documento, pretende abarcar todos los usos habituales de este término incluyendo, por ejemplo, formulaciones en polvo y liofilizadas. Las formulaciones presentemente descritas pueden estar liofilizadas.

Los términos tampón, solución tampón y solución tamponada, cuando se utiliza en referencia a la concentración de iones de hidrógeno o pH, se refieren a la capacidad de un sistema, especialmente una solución acuosa, para soportar un cambio de pH por adición de ácido o álcali, o tras dilución con un disolvente. Una característica de soluciones tamponadas, que experimentan pequeños cambios en el pH tras la adición de un ácido o una base, es la presencia de un ácido débil y una sal del ácido débil, o bien de una base débil y una sal de la base débil. Un ejemplo del primer sistema es ácido acético y acetato de sodio. El cambio en el pH es pequeño, siempre que la cantidad de ion hidronio o hidroxilo añadido no supere la capacidad del sistema tampón para neutralizarlo.

Como se describe en el presente documento, varios vehículos líquidos es adecuada para su uso en las formulaciones de los polipéptidos quiméricos, por ejemplo, agua, o una mezcla de disolvente acuoso/orgánico, o una suspensión.

La estabilidad de una formulación de polipéptido quimérico para el que se describe en el presente documento mejora por el mantenimiento del pH de la formulación en un intervalo determinado por métodos conocidos en la técnica. En determinadas realizaciones, el pH de la formulación se mantiene en el intervalo de aproximadamente 3,5 a 5,0, o de aproximadamente 3,5 a 6,5, en algunas realizaciones de aproximadamente 3,7 a 4,3, o de aproximadamente 3,8 a 4,2. En algunas realizaciones, el pH puede ser aproximadamente 4,0, aproximadamente 5,0, aproximadamente 6,0, aproximadamente 7,0, aproximadamente 8,0, aproximadamente 9,0, o incluso mayor. En algunas realizaciones, el pH puede estar en el intervalo fisiológico, pH 6-8, preferentemente pH 7-7,6.

En determinadas realizaciones, el tampón con el polipéptido quimérico es un tampón acetato (preferentemente a una concentración final de la formulación de aproximadamente 1-5 a aproximadamente 60 mM), tampón fosfato (preferentemente a una concentración final de la formulación de aproximadamente 1-5 a aproximadamente 30 mM) o tampón glutamato (preferentemente a una concentración final de la formulación de aproximadamente 1-5 a aproximadamente 60 mM). En algunas realizaciones, el tampón es acetato (preferentemente a una concentración final de la formulación de aproximadamente 5 a aproximadamente 30 mM).

Se puede incluir un estabilizante en las formulaciones, pero por lo general no es necesario. Si se incluye, sin embargo, un estabilizante de utilidad en la práctica de la presente invención es un carbohidrato o un alcohol polihidroxilado. Un estabilizante de utilidad en la práctica de la presente invención adecuado es aproximadamente de 1,0 a 10 % (p/v) de un carbohidrato o un alcohol polihidroxilado. Los alcoholes polihidroxilados y los carbohidratos comparten la misma característica en sus cadenas principales, es decir, -CHOH-CHOH-, que es responsable de estabilizar las proteínas. Los alcoholes polihidroxilados incluyen compuestos tales como sorbitol, manitol, glicerol, y polietilenglicoles (PEG). Estos compuestos son moléculas de cadena recta. Los carbohidratos, tales como manosa, ribosa, sacarosa, fructosa, trehalosa, maltosa, inositol, y lactosa, por otra parte, son moléculas cíclicas que pueden contener un grupo ceto o aldehído. Estas dos clases de compuestos han demostrado ser eficaces para estabilizar proteínas contra la desnaturalización causada por la temperatura elevada y los procesos de congelación-descongelación o criodesecación. Los carbohidratos adecuados incluyen: galactosa, arabinosa, lactosa o cualquier otro carbohidrato que no tiene un efecto adverso en un paciente diabético, es decir, el carbohidrato no se metaboliza para formar concentraciones inaceptablemente elevadas de glucosa en sangre. Dichos carbohidratos son bien conocidos en la técnica como adecuados para los diabéticos. La sacarosa y la fructosa son adecuadas para su uso con el compuesto en aplicaciones no para diabéticos (por ejemplo, para tratar la obesidad).

En determinadas realizaciones, si se incluye un estabilizante, el compuesto se estabiliza con un alcohol polihidroxiado tal como sorbitol, manitol, inositol, glicerol, xilitol, y copolímero de polipropileno/etilenglicol, así como varios polietilenglicoles (PEG) de peso molecular 200, 400, 1450, 3350, 4000, 6000, 8000 e incluso mayor). En algunas realizaciones, el alcohol polihidroxiado preferido es manitol. Otra característica útil de las formulaciones liofilizadas de la presente invención es el mantenimiento de la tonicidad de las formulaciones liofilizadas descritas en el presente documento con los mismos componentes de la formulación que sirven para mantener su estabilidad. En algunas realizaciones, el manitol es el alcohol polihidroxiado preferido con este fin.

La United States Pharmacopeia (USP) establece que se deben añadir agentes antimicrobianos en concentraciones bacteriostáticas o fungistáticas a las preparaciones contenidas en envases multidosis. Deben estar presentes en una concentración adecuada en el momento de uso para prevenir la multiplicación de microorganismos introducidos accidentalmente en la preparación al extraer una porción del contenido con una aguja hipodérmica y una jeringa, o al utilizar otro medio de administración invasivo, tal como inyectores de tipo pluma. Los agentes antimicrobianos deberán evaluarse para garantizar la compatibilidad con el resto de componentes de la fórmula, y su actividad debería evaluarse en la fórmula total para garantizar que un agente concreto que es eficaz en una formulación no es ineficaz en otra. No es habitual descubrir que un determinado agente antimicrobiano es eficaz en una formulación, pero no en otra.

Un conservante es, en el sentido farmacéutico habitual, una sustancia que previene o inhibe el crecimiento microbiano y se pueden añadir a las formulaciones farmacéuticas con este fin para evitar el consiguiente deterioro de la formulación por los microorganismos. Aunque la cantidad de conservante no es elevada, puede afectar, sin embargo, a la estabilidad global del péptido.

Aunque el conservante para su uso en las composiciones farmacéuticas puede estar comprendido en un intervalo de 0,005 al 1,0 % (p/v), en algunas realizaciones, el intervalo para cada conservante, solo o combinado con otros, es: alcohol bencílico (0,1-1,0 %), o m-cresol (0,1-0,6 %), o fenol (0,1-0,8 %) o combinación de metilo (0,05-0,25 %) y etilparabeno o propilparabeno o butilparabeno (0,005 %-0,03 %). Los parabenos son ésteres de alquilo inferior del ácido parahidroxibenzoico. Puede encontrarse una descripción detallada de cada conservante en *Remington's Pharmaceutical Sciences (Id.)*

Es posible que los polipéptidos quiméricos no tengan tendencia a quedar adsorbidos sobre el vidrio de un recipiente de vidrio cuando están en forma líquida, por lo tanto, es posible que no requiera un tensioactivo para estabilizar adicionalmente la formulación farmacéutica. Sin embargo, con respecto a los compuestos que tienen dicha tendencia cuando están en forma líquida, se deberá usar un tensioactivo en su formulación. A continuación, estas formulaciones pueden liofilizarse. Los tensioactivos ocasionan frecuentemente la desnaturalización de la proteína, tanto por perturbación hidrófoba como mediante separación del pueden salino. Concentraciones relativamente bajas de tensioactivo pueden ejercer una potente actividad de desnaturalización, debido a las fuertes interacciones entre los restos del tensioactivo y los sitios reactivos de las proteínas. Sin embargo, el uso juicioso de esta interacción puede estabilizar proteínas contra la desnaturalización interfacial o superficial. Los tensioactivos que podrían estabilizar adicionalmente el polipéptido quimérico pueden estar opcionalmente presentes en el intervalo de aproximadamente 0,001 al 0,3 % (p/v) de la formulación total e incluyen polisorbato 80 (es decir, monooleato de sorbitán polioxietilenado (20)), CHAPS® (es decir, 1-propanosulfonato de 3-[(3-colamidopropil) dimetilamonio]), Brij® (por ejemplo, Brij® 35, que es lauril éter polioxietilenado (23), poloxámero, u otro tensioactivo no iónico.

También puede ser deseable añadir cloruro de sodio u otra sal para ajustar la tonicidad de la formulación farmacéutica, dependiendo del tonificante seleccionado. Sin embargo, esto es opcional, y depende de la formulación particular seleccionada. Las formulaciones parenterales pueden ser preferentemente isotónicas o sustancialmente isotónicas.

Un vehículo preferido para los productos parenterales es el agua. El agua de calidad adecuada para administración parenteral se puede preparar tanto mediante destilación como mediante ósmosis inversa. El agua para inyección es el vehículo acuoso preferido para usar en las formulaciones farmacéuticas.

Es posible que otros ingredientes puedan estar presentes en las formulaciones farmacéuticas. Dichos ingredientes adicionales pueden incluir, por ejemplo, agentes humectantes, emulsionantes, aceites, antioxidantes, agentes de carga, modificadores de la tonicidad, agentes quelantes, iones metálicos, vehículos oleaginosos, proteínas (por ejemplo, albúmina de suero humano, gelatina o proteínas) y un ion híbrido (por ejemplo, un aminoácido tal como una betaina, taurina, arginina, glicina, lisina e histidina). Además, las soluciones poliméricas, o las mezclas con polímeros proporcionan la oportunidad de una liberación controlada del péptido. Dichos ingredientes adicionales, por supuesto, no deberán alterar negativamente la estabilidad global de la formulación farmacéutica de la presente invención.

Los envases son también una parte integrante de la formulación para inyección y se puede considerar como un componente, ya que no existe ningún envase sea totalmente inerte, o que no afecte de algún modo al líquido que contiene, especialmente si el líquido es acuoso. Por lo tanto, la selección de un envase para una inyección en particular debe basarse en la consideración de la composición del envase, así como la de la solución, y el

tratamiento al que se va a someter. La adsorción del péptido en la superficie de vidrio del vial también se puede minimizar, en caso necesario, mediante el uso de vidrio de borosilicato, por ejemplo, vidrio de borosilicato Wheaton Tipo I n.º 33 (Wheaton Tipo 1-33) o su equivalente (Wheaton Glass Co.). Otros proveedores de viales de vidrio de borosilicato y cartuchos similares adecuados para la fabricación incluyen Kimbel Glass Co., West Co., Bunder Glas GMBH y Form a Vitrum. Las propiedades biológicas y químicas del compuesto se pueden estabilizar mediante formulación y liofilización en un vial de vidrio de borosilicato Wheaton Tipo 1-33 para suero hasta una concentración final de 0,1 mg/ml y 10 mg/ml del compuesto en presencia de manitol al 5 %, y Tween 80 al 0,02 %.

Para las formulaciones a administrar mediante inyección, para permitir la introducción de una aguja de una jeringa hipodérmica en un vial multidosis y permitir el reprecintado en cuando se ha retirado la aguja, el extremo abierto de cada vial preferentemente se sella con un cierre de tapón de caucho que se mantiene en su lugar por medio de una banda de aluminio.

Los tapones para viales de vidrio, tales como, West 4416/50, 4416/50 (cara de teflón) y 4406/40, Abbott 5139 o cualquier tapón equivalente se puede usar como el cierre de productos farmacéuticos para inyección. Para las formulaciones que comprenden agentes peptídicos contra la obesidad, estos tapones son compatibles tanto con el péptido como con el resto de componentes de la formulación. Como alternativa, el péptido se puede liofilizar en el interior de viales, jeringas o cartuchos para su posterior reconstitución. Las formulaciones líquidas de la presente invención se pueden introducir en cartuchos de una o dos cámaras, o jeringas de una o dos cámaras.

Cada uno de los componentes de la formulación farmacéutica anteriormente descritos son conocidos en la técnica y se describen en PHARMACEUTICAL DOSAGE FORMS: PARENTERAL MEDICATIONS, Vol. 1, 2ª ed., Avis et al. Ed., Marcel Dekker, Nueva York, N.Y. 1992.

El proceso de fabricación de las formulaciones líquidas anteriores implica por lo general las etapas de composición, filtración para esterilizar, y llenado. El procedimiento de composición implica la disolución de los ingredientes en un orden específico (conservante seguido de agentes estabilizantes/de tonicidad, tampones y péptido) o disolución a la vez.

Las formulaciones alternativas, por ejemplo, no parenterales, pueden no necesitar esterilización. Sin embargo, si la esterilización se desea o es necesaria, se puede usar cualquier proceso de esterilización adecuado durante el desarrollo de la formulación farmacéutica peptídica de la presente invención. Los procesos de esterilización típicos incluyen la filtración, vapor (calor húmedo), calor seco, gases (por ejemplo, óxido de etileno, formaldehído, dióxido de cloro, óxido de propileno, beta-propiolactona, ozono, cloropicrina, ácido peracético, bromuro de metilo, y similares), exposición a una fuente de radiación, y manipulación aséptica. La filtración es el método de esterilización preferido para las formulaciones líquidas de la presente invención. La esterilización por filtración implica la filtración a través de 0,45 µm y 0,22 µm (1 o 2) que pueden conectarse en serie. Tras la filtración, la solución se introduce en viales o envases adecuados.

En determinadas realizaciones, los polipéptidos quiméricos descritos en el presente documento se administran de forma periférica a los sujetos. En algunas realizaciones, las formulaciones farmacéuticas líquidas de la presente invención están previstas para administración parenteral. Las vías de administración adecuadas incluyen la intramuscular, intravenosa, subcutánea, intradérmica, intraarticular, intratecal y similares. En algunas realizaciones, se prefiere la vía de administración subcutánea. En determinadas realizaciones, también se prefiere la administración mucosal. Estas vías incluyen, aunque no de forma limitativa, las vías oral, nasal, sublingual, pulmonar y bucal que pueden incluir la administración del péptido en forma líquida, semisólida o sólida. Para las formulaciones que comprenden polipéptidos quiméricos, la administración a través de estas vías puede requerir bastante más compuesto para conseguir los efectos biológicos deseados debido a la menor biodisponibilidad en comparación a la administración parenteral. Además, la administración parenteral de liberación controlada se puede conseguir constituyendo microcápsulas poliméricas, matrices, soluciones, implantes y dispositivos y su administración por vía parenteral o por medios quirúrgicos. Los ejemplos de formulaciones de liberación controlada se describen en las patentes de Estados Unidos n.º 6.368.630, 6.379.704, y 5.766.627. Estas formas farmacéuticas pueden tener una menor biodisponibilidad debido a que parte del péptido queda atrapado en la matriz o dispositivo polimérico. Véanse, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos números 6.379.704, 6.379.703, y 6.296.842.

Los compuestos se pueden proporcionar en una forma farmacéutica unitaria que contiene una cantidad del polipéptido quimérico que será eficaz en una o varias dosis.

Como reconocerán los expertos en el campo, una cantidad eficaz del polipéptido quimérico variará con muchos factores, incluida la edad y el peso del sujeto, el estado físico del sujeto, la dolencia a tratar, y otros factores conocidos en la técnica. Una cantidad eficaz del polipéptido quimérico variará también con la combinación en particular administrada. Como se describe en el presente documento, la administración de los polipéptidos quiméricos combinados puede permitir que una cantidad reducida de cualquiera de los polipéptidos quiméricos administrados sea una cantidad eficaz.

C. Dosificaciones eficaces

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento incluyen composiciones en las que el principio activo está contenido en una cantidad terapéuticamente eficaz, es decir, una cantidad eficaz para conseguir su fin previsto. La cantidad eficaz real para una aplicación en particular dependerá, *inter alia*, de la dolencia a tratar.

5 Por ejemplo, cuando se administra en métodos para tratar la diabetes, dichas composiciones contendrán una cantidad de un principio activo eficaz para conseguir el resultado deseado (por ejemplo, disminuir la glucosa en sangre en ayunas de un sujeto). Cuando se administra en métodos para tratar la obesidad, dichas composiciones contendrán una cantidad de un principio activo eficaz para conseguir el resultado deseado (por ejemplo, disminuir la masa corporal).

10 La dosis y la frecuencia (dosis única o múltiples) del compuesto administrado pueden variar dependiendo de varios factores, entre los que se incluyen la vía de administración; tamaño, edad, sexo, salud, peso corporal, índice de masa corporal, y dieta del receptor; naturaleza y extensión de los síntomas de la enfermedad a tratar (por ejemplo, la sensibilidad de la enfermedad a los compuestos descritos en el presente documento); presencia de otras enfermedades u otros problemas relacionados con la salud; tipo de tratamiento simultáneo; y complicaciones de cualquier enfermedad o régimen de tratamiento. Otros regímenes o agentes terapéuticos se pueden usar junto con los usos médicos y los polipéptidos de la invención.

15 Las cantidades terapéuticamente eficaces para usar en seres humanos se pueden determinar en modelos animales. Por ejemplo, una dosis para seres humanos se puede formular para alcanzar una concentración que se ha descubierto eficaz en animales. La dosificación en seres humanos se puede ajustar controlando uno o más parámetros fisiológicos, que incluyen, pero no se limitan al azúcar en sangre y la masa corporal, y ajustar la dosis hacia arriba o hacia abajo, como se ha descrito anteriormente y se conoce en la técnica.

25 Las dosificaciones pueden variar dependiendo de las necesidades del paciente y el compuesto que se utiliza. La dosis administrada a un paciente, en el contexto de la presente invención, debería ser suficiente para afectar una respuesta terapéutica beneficiosa en el paciente con el tiempo. El tamaño de la dosis se determinará también según la existencia, naturaleza, y extensión de cualesquiera efectos secundarios. En general, el tratamiento se inicia con dosis más pequeñas, que son menores que la dosis óptima del compuesto. A continuación, la dosis aumenta en incrementos pequeños incrementos hasta que se alcanza el efecto óptimo dependiendo de las circunstancias. En una realización de la invención, el intervalo de dosificación es de 0,001 % al 10 % p/v. En otra realización, el intervalo de dosificación es de 0,1 % al 5 % p/v.

35 Sin embargo, las dosis típicas pueden contener desde un límite inferior de aproximadamente 0,1 mg hasta un límite superior de aproximadamente 200 mg del compuesto farmacéutico al día. También se contemplan otros intervalos de dosificación tales como de 1 mg a 100 mg del compuesto por dosis, y de 3 mg a to 70 mg por dosis. Las dosis diarias se pueden suministrar en dosis unitarias discretas, o proporcionarse de forma continua en un periodo de 24 horas o cualquier parte de dichas 24 horas.

40 Las cantidades e intervalos de dosis se pueden ajustar individualmente para proporcionar niveles del compuesto administrado eficaces para la indicación clínica en particular que se está tratando. Esto proporcionará un régimen terapéutico que esté en consonancia con la gravedad de la patología del individuo.

45 Utilizando las enseñanzas proporcionadas en el presente documento, se puede planificar un régimen de tratamiento terapéutico o profiláctico eficaz que no ocasiona toxicidad sustancial y que por tanto sea completamente eficaz para tratar los síntomas clínicos demostrados por el paciente en particular. Esta planificación deberá implicar la selección cuidadosa del principio activo teniendo en cuenta factores tales como la potencia del compuesto, la biodisponibilidad relativa, el peso corporal del paciente, la presencia y la gravedad de los efectos secundarios adversos, el modo de administración preferido, y el perfil de toxicidad del agente seleccionado.

50

D. Toxicidad

La relación entre la toxicidad y el efecto terapéutico de un compuesto en particular es el índice terapéutico, y se puede expresar como la relación entre la DL₅₀ (la cantidad de compuesto letal para el 50 % de la población) y la DE₅₀ (la cantidad de compuesto eficaz para el 50 % de la población). Se prefieren los compuestos que presentan los mayores índices terapéuticos. Los datos del índice terapéutico obtenidos en ensayos de cultivos celulares y/o estudios en animales pueden usarse para formular un intervalo de dosificaciones adecuadas para su uso en seres humanos. La dosificación de dichos compuestos preferentemente está comprendida en un intervalo de concentraciones en plasma que incluyen la DE50 con poca o ninguna toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma farmacéutica utilizada y la vía de administración utilizada. Véase, *por ejemplo*, Fingl et al., En: THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS, Ch.1, p.1, 1975. La formulación exacta, la vía de administración y la dosificación pueden seleccionarse por el médico individual a la vista del estado del paciente y el método en particular donde se usa el compuesto.

65 VII. EJEMPLOS

Ejemplo 1: Recuperación del polipéptido quimérico

Las secuencias de proteínas se diseñaron y se sometieron a traducción inversa usando un programa informático comercial para clonar la secuencia de ADN en un vector de expresión en *E. coli*. Las secuencias se obtuvieron bien como oligonucleótidos, que se ensamblaron entre sí mediante técnicas de amplificación PCR convencionales, o se digirieron a partir de las construcciones de expresión existentes usando enzimas de restricción convencionales y después se volvieron a ligar entre sí. Las secuencias que expresan las proteínas de interés se introdujeron en pET45 con un promotor T7 para la expresión inducible. Una vez que las construcciones se verificaron mediante secuenciación, el vector de ADN se purificó y se transformó en un hospedador de expresión, normalmente BL21(DE3). Se seleccionó una sola colona para crecer en un cultivo iniciador en 4 ml de medio LB durante 6 horas. Se prepararon patrones de glicerol añadiendo 100 ul de glicerol al 80 % a 900 ul de patrón y se almacenaron a -80 °C. Opcionalmente, se guardaron 500 ul de la muestra sin inducir para análisis en gel. Se inocularon 60 ml de cultivo (medio magic) usando 60 ul de cultivo iniciador en un matraz Thompson de 125 ml y se incubó a 30° C durante la noche. Se extrajeron 250 ul de muestra para análisis. Se centrifugó y el aglomerado celular se criodeseccó para procesamiento posterior.

Las células bacterianas se recogieron y se lisaron posteriormente para aislar los cuerpos de inclusión. Como la proteína estaba presente en los cuerpos de inclusión, estos se solubilizaron y la proteína se volvió a plegar a 4 °C. A continuación, las proteínas se separaron usando cromatografía de exclusión molecular hasta que solamente quedó una banda, y los niveles de endotoxina fueron aceptables para el ensayo in vivo. Se realizaron análisis mediante HPLC analítica, RP-CL-EM y SDS-PAGE como medidas de control de calidad sobre la proteína final. La proteína se distribuyó en alícuotas predeterminadas y se almacenó a -80 °C.

Ejemplo 2: Propiedades biológicas y farmacéuticas

Tal como se establece en la Tabla 3 siguiente, los polipéptidos quiméricos descritos en el presente documento tienen propiedades comparables, y en algunos casos superiores, en comparación con la A100 (Compuesto 37, SEQ ID NO: 24). Estas propiedades incluyen propiedades biológicas tales como actividad de unión a leptina, actividad funcional de leptina, e ingesta de alimentos en ratones, y propiedades farmacéuticas tales como solubilidad en un pH neutro.

Los ensayos ilustrativos de actividad de unión a leptina y actividad funcional de leptina se han descrito anteriormente.

La actividad de ingesta de alimento en ratones se sometió a ensayo de la siguiente forma: Ratas C57BL6 hembra y su alimento se pesaron diariamente 3 horas antes del apagado de luces. Inmediatamente antes de la pesada, en los días 0, 1, 2 y 3 los ratones recibieron una inyección SC con el compuesto de leptina o mutante en 1xPBS. Los puntos representan el promedio \pm sd de n=9 jaulas (3 ratones/jaula). Los resultados indicados en el apartado "Ingesta de alimento del ratón" en la Tabla 3 corresponden al vehículo corregido, cambio en el % de peso corporal medido después del Día 4.

La solubilidad se midió con el siguiente ensayo: las proteínas se concentraron a 4 °C, se centrifugaron para eliminar el precipitado, después, se dejó equilibrar a temperatura ambiente durante la noche. Se filtraron para eliminar el precipitado y a continuación la concentración se determinó midiendo la absorbancia OD280 y usando el coeficiente de extinción molar teórico.

Tabla 3. Propiedades biológicas y farmacéuticas de los polipéptidos quiméricos

Compuesto	SEQ ID NO.	CI50 (unión células Obeca) nM	CE50 (Ensayo funcional Stat5 de OBeca) nM	Ingesta de alimento del ratón	Solubilidad en pH neutro PBS mg/ ml*
37	24	0,2 nM-0,8 nM	0,02	4,053	5
38	28	1,996	0,019	6,7	35
	53	ND	0,095	3,1	ND
39					
40	69	2,412	0,588	0	17
41	32	0,555	0,028	10,8	21
42	61	2,017	0,043	8,4	17
43	55	3,082	0,054	6,5	17
44	57	3,542	0,032	6,4	20
45	63	0,527	0,029	10,3	18
46	59	0,479	0,042	□0-2 %	20
47	71	0,788	0,0625	□4 %	15
48	33	0,036	0,039	4,9	14

49	81	0,105	0,034	4	13
50	67	0,214	0,022	8,3	5
51	65	0,119	0,038	3,8	25
52	73	ND	0,044	ND	19
ND = no determinado					
*Estos números no representan obligatoriamente la solubilidad máxima de cada compuesto.					

Ejemplo 3: Estabilidad de péptidos quiméricos

5 Tal como se establece en la Tabla 4 siguiente, los polipéptidos quiméricos descritos en el presente documento tienen una estabilidad física comparables, y en algunos casos superior, en comparación con la A100 (Compuesto 37, SEQ ID NO: 24). Los compuestos se formularon en el siguiente tampón: ácido glutámico 10 mM, glicina al 2 %, sacarosa al 1 %, Tween20 al 0,01 %, pH 4,25 y se almacenó a 37 °C. Las muestras se tendieron a T = 0, 2, 5, 7, y 14 días y se analizaron mediante análisis visual, cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) en fase invertida, espectrometría UV, y dispersión de luz dinámica (DLS). Como se muestra en la Tabla 4, los polipéptidos quiméricos 10 tienen pureza y potencia comparable o superior, en comparación con el Compuesto 37.

Tabla 4. Estabilidad de polipéptidos quiméricos

Comp.	Potencia restante*	Pérdida de pureza**	Potencia corregida**	Visual	Cambio de tamaño (DLS)	
38	1 mg/ml	96,3 %	1,8 %	94,6 %	Transparente	1,0
41	1 mg/ml	92,2 %	1,9 %	90,4 %	Transparente	2,0
48	1 mg/ml	88,8 %	2,7 %	86,1 %	Transparente	1,7
42	1 mg/ml	96,3 %	14,9 %	81,4 %	Transparente	1,9
49	1 mg/ml	94,5 %	13,0 %	81,5 %	Transparente	1,0
37	1 mg/ml	98,5 %	10,7 %	87,8 %	Transparente	1,0

*potencia UV normalizada con respecto a T=0

**pureza RP-HPLC normalizada con respecto a T=0

15 ***potencia UV - pureza CL (soluble total - deg soluble)

Ejemplo 4: Cambio en el peso corporal después de la administración diaria del polipéptido quimérico.

20 **Método.** Ratas C57BL6 hembra y su alimento se pesaron diariamente 3 horas antes del apagado de luces. Inmediatamente antes de la pesada, en los días 0, 1, 2 y 3 los ratones recibieron una inyección SC con el compuesto de leptina o mutante en 1xPBS. Los puntos representan el promedio \pm sd de n=4 jaulas (3 ratones/jaula). Cada grupo (n=12/grupo) fue asignado para recibir uno de los siguientes: vehículo; Comp. 41 a 0,1 mg/kg; Comp. 41 a 0,3 mg/kg; Comp. 41 a 1 mg/kg; Comp. 41 a 3 mg/kg; Comp. 41 a 5 mg/kg; Comp. 41 a 10 mg/kg. La ingesta de alimento y el cambio en el peso corporal (corregido para el % de vehículo) se controlaron durante 4 días, y los 25 resultados se registraron como se muestra (Figuras 1A y 1B). Los puntos representan el promedio \pm sd de n=4 jaulas (3 ratones/jaula). Compuestos administrados: Vehículo (círculo sólido); Comp. 41 a 0,1 mg/kg (triángulo con la punta hacia abajo); Comp. 41 a 0,3 mg/kg (rombo vacío); Comp. 41 a 1 mg/kg (círculo vacío); Comp. 41 a 3 mg/kg (triángulo con la punta hacia arriba); Comp. 41 a 5 mg/kg (estrella); Comp. 41 a 10 mg/kg (rombo sólido).

30 **Resultados.** Tal como se representa gráficamente en las Figuras 1A y 1B, la administración de diferentes dosis de polipéptido quimérico dio como resultado una reducción de la ingesta de alimento y peso corporal con respecto al grupo que recibió el vehículo solo. Se observa una respuesta a la dosis en la Figura 1C.

Ejemplo 5: Cambio en el peso corporal después de la administración diaria del polipéptido quimérico.

35 **Método.** Ratas C57BL6 hembra y su alimento se pesaron diariamente 3 horas antes del apagado de luces. Inmediatamente antes de la pesada, en los días 0, 1, 2 y 3 los ratones recibieron una inyección SC con el compuesto de leptina o mutante en 1xPBS. Los puntos representan el promedio \pm sd de n=4 jaulas (3 ratones/jaula). Cada grupo (n=12/grupo) fue asignado para recibir uno de los siguientes: vehículo; Comp. 42 a 0,1 mg/kg; Comp. 42 a 0,3 mg/kg; Comp. 42 a 1 mg/kg; Comp. 42 a 3 mg/kg; Comp. 42 a 5 mg/kg; Comp. 42 a 10 mg/kg. La ingesta de alimento y el cambio en el peso corporal (corregido para el % de vehículo) se controlaron durante 4 días, y los 40 resultados se registraron como se muestra (Figuras 2A y 2B). Los puntos representan el promedio \pm sd de n=4 jaulas (3 ratones/jaula). Compuestos administrados: Vehículo (círculo sólido); Comp. 42 a 0,1 mg/kg (triángulo con la punta hacia arriba); Comp. 42 a 0,3 mg/kg (triángulo con la punta hacia arriba); Comp. 42 a 1 mg/kg (cuadrado sólido); Comp. 42 a 3 mg/kg (barra por encima y debajo del punto); Comp. 42 a 5 mg/kg (estrella); Comp. 42 a 10 mg/kg (barra por encima del punto).

Resultados. Tal como se representa gráficamente en las Figuras 2A y 2B, la administración de diferentes dosis de polipéptido quimérico dio como resultado una reducción de la ingesta de alimento y peso corporal con respecto al

grupo que recibió el vehículo solo. Se observa una respuesta a la dosis en la Figura 2C.

5 Como se muestra en la Tabla 5, las respuestas a la dosis medidas para los polipéptidos quiméricos 41 y 42 son comparables a las respuestas a la dosis medidas para la leptina de pinnípedo (Comp. 38) y para la leptina humana (Comp. 37) a partir de la que se han derivado los polipéptidos quiméricos.

Tabla 5. Respuesta a la dosis de polipéptidos quiméricos

Compuesto	DE50
37	0,44-0,6 mg/kg
38	0,8 mg/kg
41	0,5 mg/kg
42	1,1 mg/kg

10

Se proporcionan a continuación ejemplos adicionales de los polipéptidos quiméricos, métodos de uso de los mismos, y composiciones farmacéuticas:

15 E1. Un polipéptido quimérico que comprende un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre en el que al menos una región contigua de 1-30 aminoácidos de una secuencia de leptina de pinnípedo de tipo silvestre se ha sustituido por una región contigua de 1-30 aminoácidos de una secuencia de leptina humana madura.

20 E2. El polipéptido quimérico de acuerdo con E1, en el que dos o más regiones contiguas de 1-30 aminoácidos de una secuencia de leptina de pinnípedo de tipo silvestre se han sustituido en cada región por una región contigua de 1-30 aminoácidos de una secuencia de leptina humana madura.

25 E3. El polipéptido quimérico de acuerdo con E1 o E2, en el que una secuencia de leptina de pinnípedo de tipo silvestre comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO:31.

30 E4. El polipéptido quimérico de acuerdo con uno cualquiera de E1-E3, en el que una secuencia de leptina humana madura comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las: SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, y la SEQ ID NO: 51.

35 E5. El polipéptido quimérico de acuerdo de una cualquiera de E1-E4, en el que una secuencia de leptina humana madura comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las: SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, y la SEQ ID NO:51, en la que la secuencia de la leptina humana madura tiene al menos una sustitución de aminoácidos en una posición donde se observa una divergencia en una posición correspondiente a una leptina de otra especie.

40 E6. El polipéptido quimérico de acuerdo de una cualquiera de E1-E5, en el que una secuencia de leptina humana madura comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las: SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, y SEQ ID NO:51, en la que la secuencia de la leptina humana madura tiene al menos dos sustituciones de aminoácidos en posiciones donde se observa una divergencia en posiciones correspondientes una leptina de otra especie.

45 E7. El polipéptido quimérico de acuerdo de una cualquiera de E1-E6, en el que una secuencia de leptina humana madura comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las: SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, y SEQ ID NO:51, en la que la secuencia de la leptina humana madura tiene al menos tres sustituciones de aminoácidos en posiciones donde se observa una divergencia en posiciones correspondientes una leptina de otra especie.

60

otra especie.

E15. El polipéptido quimérico de acuerdo de una cualquiera de E1-E14, en el que la secuencia de leptina humana comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:24.

5
E16. El polipéptido quimérico de acuerdo de una cualquiera de E1-E15, en el que el polipéptido quimérico comprende una secuencia de aminoácidos con una identidad de al menos un 80 % con un aminoácido seleccionado entre el grupo que consiste en la: SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 84, y la SEQ ID NO: 85.

15
E17. El polipéptido quimérico de acuerdo de una cualquiera de E1-E16, en el que el polipéptido quimérico comprende una secuencia de aminoácidos con una identidad de al menos un 80 % con un aminoácido seleccionado entre el grupo que consiste en la: SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33.

20
E18. El polipéptido quimérico de acuerdo de una cualquiera de E1-E17, en el que el polipéptido quimérico comprende una secuencia de aminoácidos con una identidad de al menos un 80 % con una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33.

25
E19. El polipéptido quimérico de acuerdo de una cualquiera de E1-E18, en el que el polipéptido quimérico comprende una secuencia de aminoácidos con una identidad de al menos un 90 % con una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33.

30
E20. El polipéptido quimérico de acuerdo de una cualquiera de E1-E19, en el que el polipéptido quimérico comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las: SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 84, y la SEQ ID NO: 85.

35
E21. El polipéptido quimérico de acuerdo de una cualquiera de E1-E20, en el que el polipéptido quimérico comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las: SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO:33.

40
E22. El polipéptido quimérico de acuerdo de una cualquiera de E1-E21, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29.

45
E23. El polipéptido quimérico de acuerdo de una cualquiera de E1-E21, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:30.

E24. El polipéptido quimérico de acuerdo de una cualquiera de E1-E21, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:32.

50
E25. El polipéptido quimérico de acuerdo de una cualquiera de E1-E21, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33.

55
E26. Un método para tratar una enfermedad o trastorno en un sujeto, que comprende administrar un polipéptido quimérico de una cualquiera de E1-E25 a un sujeto que lo necesita en una cantidad eficaz para tratar dicha enfermedad o trastorno.

60
E27. El método de acuerdo con E26, en el que la enfermedad o trastorno es una enfermedad o trastorno seleccionado entre el grupo que consiste en: lipodistrofia, dislipidemia, hiperlipidemia, sobrepeso, obesidad, amenorrea hipotalámica, enfermedad de Alzheimer, deficiencia de leptina, enfermedad de hígado graso, diabetes (incluyendo tipo I y tipo II), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), enfermedad de hígado graso no alcohólica (NAFLD), síndrome metabólico X y enfermedad de Huntington.

65
E28. El método de E26 o E27, en el que la enfermedad o trastorno es lipodistrofia, dislipidemia, hiperlipidemia, sobrepeso, obesidad, amenorrea hipotalámica, enfermedad de Alzheimer, deficiencia de leptina, enfermedad del hígado graso o diabetes.

E29. El método de una cualquiera de E26-E28, en el que la enfermedad o trastorno es diabetes de tipo I o diabetes de tipo II.

E30. El método de una cualquiera de E26-E28, en el que la enfermedad o trastorno es obesidad.

E31. El método de una cualquiera de E26-E28, en el que la enfermedad o trastorno es lipodistrofia o deficiencia en leptina.

E32. Una composición farmacéutica que comprende un polipéptido quimérico de acuerdo con una cualquiera de las E1-E25 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

VIII. Listado de secuencias informal

Se indica a continuación un listado informal de las secuencias divulgadas en el presente documento:

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHT-Xaa-SVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLA
 VYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKCSCHLPQASGLETLES LGGVLEAS GYSTEVALSR-
 LQGSLQDMLQQLDLSPGC, donde Xaa en la posición 28 es Q o está ausente (SEQ ID NO: 1)

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSAKQRVTGLDFIPGLHPILSLSKMDQTLAVY
 QQVLTSLPSQNVLQIANDLENLRDLLHLLAFSKSCSLPQTSGLQKPESLDGVLEASLY
 STEVVALSRLQGSLQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO:2).

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTSVSAKQRVTGLDFIPGLHPILSLSKMDQTLAVYQ
 QVLTSLPSQNVLQIANDLENLRDLLHLLAFSKSCSLPQTSGLQKPESLDGVLEASLYS
 TEVVALSRLQGSLQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO:3).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHT-Xaa-SVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTL
 AVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKCSCHLPQASGLETLES LGGVLEA SGYSTEVALSR-
 LQGSLQDMLQQLDLSPGC, donde Xaa en la posición 29 es Q o está ausente (SEQ ID NO: 4)

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSAKQRVTGLDFIPGLHPILSLSKMDQTLAV
 YQQVLTSLPSQNVLQIANDLENLRDLLHLLAFSKSCSLPQTSGLQKPESLDGVLEASL
 YSTEVVALSRLQGSLQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO:5).

MVPIQKVQDDTKTIKTIVTRINDISHTSVSAKQRTGLDFIPGLHPILSLSKMDQTLAVY
QQVLTSLPSQNVLQIANDLENLRDLLHLLAFSKSCSLPQTSGLQKPESLDGVLEASLY
STEVVALSRLQGSLQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO:6).

VPIWRVQDDTKTIKTIVTRISDISHMQSVSSKQRTGLDFIPGLHPVLSLSKMDQTLAIY
QQILTSLPSRNVIQISNDLENLRDLLHLLASSKSCPLPQARALETLES LGGVLEASLYS
TEVVALSRLQGALQDMLRQLDLSPGC (SEQ ID NO:7).

MVPIWRVQDDTKTIKTIVTRISDISHMQSVSSKQRTGLDFIPGLHPVLSLSKMDQTLAI
YQQILTSLPSRNVIQISNDLENLRDLLHLLASSKSCPLPQARALETLES LGGVLEASLY
STEVVALSRLQGALQDMLRQLDLSPGC (SEQ ID NO:8).

VPICKVQDDTKTIKTIVTRINDISHT-Xaa-SVSSKQRTGLDFIPGLHPLLSLSKMDQTLAI
YQQILTSLPSRNVIQISNDLENLRDLLHLLAASKSCPLPQVRALESLES LGGVLEASLYSTEVVALSRLQGSLQDM-
LRQLDLSPGC, donde Xaa en la posición 28 es Q o está ausente (SEQ ID NO: 9)
MVPICKVQDDTKTIKTIVTRINDISHT-Xaa-SVSSKQRTGLDFIPGLHPLLSLSKMDQTL
AIYQQILTSLPSRNVIQISNDLENLRDLLHLLAASKSCPLPQVRALESLES LGGVLEASLYSTEVVALSR-
LQGSLQDMLRQLDLSPGC, donde Xaa en la posición 29 es Q o está ausente (SEQ ID NO: 10)

MHWGTL CGFLWLWPYLFYVQAVPIQKVQDDTKTIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTG
LDFIPGLHPILTLSKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCH
LPWASGLETLDLGGVLEASGY STEVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID
NO: 11)

VPIQKVQDDTKTIKTIVTRINDISH-Xaa-Xaa-SVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQT
LAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTEVVALSR-
LQGSLQDMLWQLDLSPGC, donde Xaa en la posición 27 es T o A; y Xaa en la posición 28 es Q o está ausente (SEQ ID
NO:12).
MVPIQKVQDDTKTIKTIVTRINDISH-Xaa-Xaa-SVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQ
TLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTEVVALSR-
LQGSLQDMLWQLDLSPGC, donde Xaa en la posición 28 es T o A; y Xaa en la posición 29 es Q o está ausente (SEQ ID
NO:13).

VPIQKVQSDTKTIKTIVTRINDISHTQSVSSKQRTGLDFIPGLHPVLTLSQMDQTLAIYQ
QILINLPSRNVIQISNDLENLRDLLHLLAFSKSCHLPWASGLETLES LGDVLEASLYSTE
VVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:14).

MVPIQKVQSDTKTIKTIVTRINDISHTQSVSSKQRTGLDFIPGLHPVLTLSQMDQTLAI
YQQILINLPSRNVIQISNDLENLRDLLHLLAFSKSCHLPWASGLETLES LGDVLEASLY
STEVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:15).

VPIHKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSARQRVTGLDFIPGLHPILSLSKMDQTLAVY
QQILTSLPSQNVLQIAHDLENLRDLLHLLAFSKSCSLPQTRGLQKPESLDGVLEASLY
STEVVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO:16).

MVPIHKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSARQRVTGLDFIPGLHPILSLSKMDQTLAV
YQQILTSLPSQNVLQIAHDLENLRDLLHLLAFSKSCSLPQTRGLQKPESLDGVLEASL
YSTEVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO:17).

ISIEKIQADTKTLTKTIITRIIQLSTQNGVSTDQRVSGLDFIPGNQQFQNLADMDQTLAVYQ
QILSSLPMPDRTQISNDLENLRSLFALLATLKNCPFTRSDGLDTMEIWGGIVEESLYST
EVVTLDRLRKSLKNIEKQLDHIQG (SEQ ID NO:18).

MRCILLYGFLCVWQHLYYSHPIKIQADTKTLTKTIITRIIQLSTQNGVSTDQRVSGLDF
IPGNQQFQNLADMDQTLAVYQQILSSLPMPDRTQISNDLENLRSLFALLATLKNCPFTR
RSDGLDTMEIWGGIVEESLYSTEVVTLDRLRKSLKNIEKQLDHIQG (SEQ ID NO:19).

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVY
QQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPWASGLETLDLGGVLEASGY
STEVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:20).

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHAQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVY
QQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPWASGLETLDLGGVLEASG
YSTEVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:21).

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVYQ
QILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPWASGLETLDLGGVLEASGYS
TEVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:22).

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHASVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVYQ
QILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPWASGLETLDLGGVLEASGYS
TEVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:23).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAV
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPWASGLETLDLGGVLEASG
YSTEVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:24).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHAQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAV
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHPWASGLETLDSLGGVLEASG
YSTEVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:25).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVY
QQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHPWASGLETLDSLGGVLEASGY
STEVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:26).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHASVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVY
QQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHPWASGLETLDSLGGVLEASGY
STEVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:27).

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQ
ILTSLQSRVSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHST
EVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:28).

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQ
ILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTE
VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:29).

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQI
LTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTE
VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:30).

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ
QILTSLQSRVSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHS
TEVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:31).

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ
QILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHST
EVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:32).

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ
QILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHST
EVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:33).

MDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
KVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTL
AVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKKSCHLPWASGLETLDLGGVLEA
SGYSTEVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:34)

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKKSCHLPQASGLETLDLGGVLEASG
YSTEVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGC (SEQ ID NO:35).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
YQQILTSMPSRNVIQICNDLENLRDLLHVLAFSKKSCHLPWASGLETLDLGGVLEASG
YSTEVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO: 36).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKKSCHLPQASGLETLESLGGVLEASG
YSTEVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGC (SEQ ID NO:37).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCSLPQASGLETLESLEGEVLEASGY
STEVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 38).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCSLPQASGLETLDLGGVLEASG
YSTEVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 39).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCSLPQASGLETLDLGEVLEASG
YSTEVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 40).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKKSCHLPQASGLETLDLGEVLEASG
YSTEVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 41).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCSLPQASGLETLDLGGVLEASG
YSTEVALSRLQGSLQDILQQDLDSPEC (SEQ ID NO: 42).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPQASGLETLDLGEVLEASG
YSTEVALSRLQGSLQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO: 43).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCSLPQTSGLETLDLGGVLEASG
YSTEVALSRLQGSLQDILQQDLDSPEC (SEQ ID NO: 44).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCSLPQASGLETLESLEGEVLEASGY
STEVALSRLQGSLQDMLWQLDSPEC (SEQ ID NO: 45).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPQASGLETLDLGGVLEASG
YSTEVALSRLQGSLQDILQQDLDSPEC (SEQ ID NO: 46).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPQASGLETLDLGGVLEASG
YSTEVALSRLQGSLQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO: 47).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCSLPQTSGLETLDLGGVLEASG
YSTEVALSRLQGSLQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO: 48).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCSLPQTSGLETLDLGEVLEASGY
STEVALSRLQGSLQDMLWQLDSPEC (SEQ ID NO: 49).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV
YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPQASGLETLDLGEVLEASG
YSTEVALSRLQGSLQDMLQQDLSPGC (SEQ ID NO: 50).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLISKMDQTLAV
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPQASGLETLDSLGEVLEASG
YSTEVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 51).

PIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ
QILTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHS
TEVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:52).

MPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATY
QQILTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASV
HSTEVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:53).

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLISKMDQTLAVYQ
QILTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHS
TEVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:54).

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLISKMDQTLAVY
QQILTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASV
HSTEVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:55).

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQ
ILTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHST
EVVALSRLQGSLQDMLWQLDLNPGC (SEQ ID NO:56).

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ
QILTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHS
TEVVALSRLQGSLQDMLWQLDLNPGC (SEQ ID NO:57).

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSGMDQILATYQQI
LTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHST
EVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:58).

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSGMDQILATYQ
QILTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHS
TEVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:59).

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQ
ILTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCHLPWASGLETLDSLGGVLEASGYST
EVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:60).

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ
QILTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCHLPWASGLETLDSLGGVLEASGY
STEVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:61).

PIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ
QILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHST
EVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:62)

MPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATY
QQILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVH
STEVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:63)

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSGMDQILATYQQI
LTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTE
VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:64)

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSGMDQILATYQ
QILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHST
EVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:65)

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQ
ILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHLPWASGLETLDSLGGVLEASGYST
EVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:66)

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ
QILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHLPWASGLETLDSLGGVLEASGYS
TEVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:67)

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSGMDQILATYQQI
LTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHST
EVVALSRLQGSLQDMLWQLDLNPGC (SEQ ID NO:68)

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQI
LTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHST
EVVALSRLQGSLQDMLWQLDLNPGC (SEQ ID NO:78).

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ
QILTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHS
TEVVALSRLQGSLQDMLWQLDLNPGC (SEQ ID NO:79).

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQI
LTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCHLPWASGLETLDSLGGVLEASGYST
EVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:80).

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ
QILTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCHLPWASGLETLDSLGGVLEASGY
STEVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:81).

PIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ
QILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHST
EVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:82)

MPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATY
QQILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVH
STEVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:83)

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQI
LTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKCHLPWASGLETLDSLGGVLEASGYSTE
VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:84)

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ
QILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKCHLPWASGLETLDSLGGVLEASGYS
TEVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:85)

KCNTATCATQLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY (SEQ ID NO:86);
KCNTATCATQLANFLVHSSNNGAILSSSTNVGSNTY (SEQ ID NO:87);
KCNTATCATQLANFLVHSSNNGPILPPTNVGSNTY (SEQ ID NO:88).
CGNLSTCMLGTYTQDFNKFHTFPQTAIGVGAP (SEQ ID NO:89);
CSNLSTCVLGKLSQELHKLQTYPRTNTGSGTP (SEQ ID NO:90);
KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO:91).

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSGMDQILATYQ
QILTSLQSRVSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHS
TEVVALSRLQGSLQDMLWQLDLNPGC (SEQ ID NO:69)

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSGMDQILATYQQI
LTSLQSRVSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCHLPWASGLETLDLGGVLEASGYST
EVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:70)

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSGMDQILATYQ
QILTSLQSRVSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCHLPWASGLETLDLGGVLEASGY
STEVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:71)

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSGMDQILATYQQI
LTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKCHLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTE
VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:72)

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSGMDQILATYQ
QILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKCHLPWASGLETLDLGGVLEASGYST
TEVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:73).

PIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLTLSGMDQILATYQ
QILTSLQSRVSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHS
TEVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:74).

MPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLTLSGMDQILATY
QQILTSLQSRVSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASV
HSTEVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:75).

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLTLKMDQTLAVYQQ
ILTSLQSRVSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHST
EVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:76).

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLTLKMDQTLAVY
QQILTSLQSRVSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASV
HSTEVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:77).

X¹-Xaa¹-Cys²-Asn³-Thr⁴-Ala⁵-Thr⁶-Cys⁷-Ala⁸-Thr⁹-Gln¹⁰-Arg¹¹-Leu¹²-Ala¹³-Asn¹⁴-Phe¹⁵-Leu¹⁶-
 Val¹⁷-His¹⁸-Ser¹⁹-Ser²⁰-Xaa²¹-Asn²²-Phe²³-Xaa²⁴-Xaa²⁵-Xaa²⁶-Xaa²⁷-Xaa²⁸-Xaa²⁹-Thr³⁰-
 Xaa³¹-Val³²-Gly³³-Ser³⁴-Asn³⁵-Thr³⁶-Tyr³⁷-X (SEQ ID NO:92)

CNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY-NH₂ (SEQ ID NO:93)
 KCNTATCATQRLANFLVRSSKNLGPVLPPTNVGSNTY-NH₂ (SEQ ID NO:94)
 CNTATCATQRLANFLVRSSKNLGPVLPPTNVGSNTY-NH₂ (SEQ ID NO:95)
 KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY-NH₂ (SEQ ID NO:96)
 CNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY-NH₂ (SEQ ID NO:97)
 KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTKVGSTY-NH₂ (SEQ ID NO:98)
 CNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTKVGSTY-NH₂ (SEQ ID NO:99)
 KCNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILPPTNVGSNTY-NH₂ (SEQ ID NO:100)
 CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILPPTNVGSNTY-NH₂ (SEQ ID NO:101)
 CNTATCATQRLANFLVHSSKNFGPILPPTNVGSNTY-NH₂ (SEQ ID NO:102)
 CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILPPTNVGSNTY-NH₂ (SEQ ID NO:103)
 CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILPPTKVGSTY-NH₂ (SEQ ID NO:104)
 CNTATCATQRLANFLVHSSNFKPILPPTNVGSNTY-NH₂ (SEQ ID NO:105)
 CNTATCATQRLANFLVHSSNFGKILPPTNVGSNTY-NH₂ (SEQ ID NO:106)
 CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPIKPPTNVGSNTY-NH₂ (SEQ ID NO:107)
 CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILKPTNVGSNTY-NH₂ (SEQ ID NO:108)
 CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILPKPTNVGSNTY-NH₂ (SEQ ID NO:109)

LISTADO DE SECUENCIAS

- 5 <110> AMYLIN PHARMACEUTICALS, INC.
- <120> LEPTINAS MUY SOLUBLES
- <130> 1317WO1
- 10 <140> PCT/US2011/053774
- <141> 28-09-2011
- <150> 61/422.091
- 15 <151> 10-12-2010
- <150> 61/387.402
- <151> 28-09-2010
- 20 <160> 164
- <170> PatentIn versión 3.5
- <210> 1
- 25 <211> 146
- <212> PRT
- <213> *Mus* sp.
- <220>
- 30 <221> MOD_RES
- <222> (28)..(28)
- <223> Puede estar o no presente
- <400> 1
- 35

ES 2 630 031 T3

Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ser
 20 25 30
 Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile
 35 40 45
 Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile
 50 55 60
 Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys
 85 90 95
 His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly Gly
 100 105 110
 Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser Pro
 130 135 140
 Gly Cys
 145

5
 <210> 2
 <211> 146
 <212> PRT
 <213> *Mus* sp.
 <400> 2

Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ala
 20 25 30
 Lys Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile
 35 40 45
 Leu Ser Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Val
 50 55 60
 Leu Thr Ser Leu Pro Ser Gln Asn Val Leu Gln Ile Ala Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys
 85 90 95
 Ser Leu Pro Gln Thr Ser Gly Leu Gln Lys Pro Glu Ser Leu Asp Gly
 100 105 110
 Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp Val Ser Pro
 130 135 140
 Glu Cys
 145

10
 <210> 3

ES 2 630 031 T3

<211> 145
 <212> PRT
 <213> *Mus* sp.

5 <400> 3

Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Ser Val Ser Ala Lys
 20 25 30
 Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile Leu
 35 40 45
 Ser Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Val Leu
 50 55 60
 Thr Ser Leu Pro Ser Gln Asn Val Leu Gln Ile Ala Asn Asp Leu Glu
 65 70 75
 Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys Ser
 85 90 95
 Leu Pro Gln Thr Ser Gly Leu Gln Lys Pro Glu Ser Leu Asp Gly Val
 100 105 110
 Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
 115 120 125
 Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp Val Ser Pro Glu
 130 135 140
 Cys
 145

10 <210> 4
 <211> 147
 <212> PRT
 <213> *Mus* sp.

15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Puede estar o no presente

20 <400> 4

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1 5 10 15
 Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
 20 25 30
 Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
 35 40 45

ES 2 630 031 T3

Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln
 50 55 60
 Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp
 65 70 75 80
 Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser
 85 90 95
 Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly
 100 105 110
 Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
 115 120 125
 Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser
 130 135 140
 Pro Gly Cys
 145

5 <210> 5
 <211> 147
 <212> PRT
 <213> *Mus* sp.
 <400> 5

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1 5 10 15
 Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
 20 25 30
 Ala Lys Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
 35 40 45
 Ile Leu Ser Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln
 50 55 60
 Val Leu Thr Ser Leu Pro Ser Gln Asn Val Leu Gln Ile Ala Asn Asp
 65 70 75 80
 Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Phe Ser Lys Ser
 85 90 95
 Cys Ser Leu Pro Gln Thr Ser Gly Leu Gln Lys Pro Glu Ser Leu Asp
 100 105 110
 Gly Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
 115 120 125
 Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp Val Ser
 130 135 140
 Pro Glu Cys
 145

10
 15 <210> 6
 <211> 146
 <212> PRT
 <213> *Mus* sp.
 <400> 6

ES 2 630 031 T3

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1 5 10 15
 Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Ser Val Ser Ala
 20 25 30
 Lys Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile
 35 40 45
 Leu Ser Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Val
 50 55 60
 Leu Thr Ser Leu Pro Ser Gln Asn Val Leu Gln Ile Ala Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys
 85 90 95
 Ser Leu Pro Gln Thr Ser Gly Leu Gln Lys Pro Glu Ser Leu Asp Gly
 100 105 110
 Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp Val Ser Pro
 130 135 140
 Glu Cys
 145

5
 <210> 7
 <211> 146
 <212> PRT
 <213> *Sus* sp.
 <400> 7

Val Pro Ile Trp Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Val Thr Arg Ile Ser Asp Ile Ser His Met Gln Ser Val Ser Ser
 20 25 30
 Lys Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Val
 35 40 45
 Leu Ser Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Ile Tyr Gln Gln Ile
 50 55 60
 Leu Thr Ser Leu Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Ser Ser Lys Ser Cys
 85 90 95
 Pro Leu Pro Gln Ala Arg Ala Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly Gly
 100 105 110
 Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Gln Gly Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Leu Ser Pro
 130 135 140
 Gly Cys
 145

10
 <210> 8
 <211> 147

ES 2 630 031 T3

<212> PRT
 <213> *Sus* sp.

<400> 8

5

```

Met Val Pro Ile Trp Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
1          5          10
Thr Ile Val Thr Arg Ile Ser Asp Ile Ser His Met Gln Ser Val Ser
20          25
Ser Lys Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
35          40          45
Val Leu Ser Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Ile Tyr Gln Gln
50          55          60
Ile Leu Thr Ser Leu Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp
65          70          75          80
Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Ser Ser Lys Ser
85          90          95
Cys Pro Leu Pro Gln Ala Arg Ala Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly
100         105
Gly Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
115        120        125
Arg Leu Gln Gly Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Leu Ser
130        135        140
Pro Gly Cys
145
    
```

<210> 9
 <211> 146
 <212> PRT
 <213> *Bos* sp.

10

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)..(28)
 <223> Puede estar o no presente

15

<400> 9

ES 2 630 031 T3

Val Pro Ile Cys Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
1 5 10 15
Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ser
20 25 30
Lys Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Leu
35 40 45
Leu Ser Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Ile Tyr Gln Gln Ile
50 55
Leu Thr Ser Leu Pro Ser Arg Asn Val Val Gln Ile Ser Asn Asp Leu
65 70 75 80
Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Ala Ser Lys Ser Cys
85 90 95
Pro Leu Pro Gln Val Arg Ala Leu Glu Ser Leu Glu Ser Leu Gly Val
100 105 110
Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
115 120 125
Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Leu Ser Pro
130 135 140
Gly Cys
145

- <210> 10
- <211> 147
- 5 <212> PRT
- <213> *Bos* sp.

- <220>
- <221> MOD_RES
- 10 <222> (29)..(29)
- <223> Puede estar o no presente

- <400> 10

ES 2 630 031 T3

Met Val Pro Ile Cys Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1 5 10 15
 Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
 20 25 30
 Ser Lys Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
 35 40 45
 Leu Leu Ser Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Ile Tyr Gln Gln
 50 55 60
 Ile Leu Thr Ser Leu Pro Ser Arg Asn Val Val Gln Ile Ser Asn Asp
 65 70 75 80
 Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Ala Ser Lys Ser
 85 90 95
 Cys Pro Leu Pro Gln Val Arg Ala Leu Glu Ser Leu Glu Ser Leu Gly
 100 105 110
 Val Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
 115 120 125
 Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Leu Ser
 130 135 140
 Pro Gly Cys
 145

5
 <210> 11
 <211> 167
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 11

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

10

ES 2 630 031 T3

5 <210> 12
 <211> 146
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (27)..(27)
 <223> Thr o Ala

15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)..(28)
 <223> Puede estar o no presente

<400> 12

```

Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
1      5      10      15

Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Xaa Gln Ser Val Ser Ser
      20      25

Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile
      35      40      45

Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile
      50      55      60

Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu
      65      70      75      80

Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys
      85      90

His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly
      100      105      110

Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
      115      120      125

Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser Pro
      130      135      140

Gly Cys
145
  
```

20 <210> 13
 <211> 147
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)..(28)
 <223> Thr o Ala

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Puede estar o no presente

35 <400> 13

ES 2 630 031 T3

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1 5 10 15
 Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Xaa Gln Ser Val Ser
 20 25 30
 Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
 35 40 45
 Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln
 50 55 60
 Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp
 65 70 75 80
 Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser
 85 90 95
 Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly
 100 105 110
 Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
 115 120 125
 Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser
 130 135 140
 Pro Gly Cys
 145

5

<210> 14
 <211> 146
 <212> PRT
 <213> *Macaca mulatta*
 <400> 14

10

Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Ser Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ser
 20 25 30
 Lys Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Val
 35 40 45
 Leu Thr Leu Ser Gln Met Asp Gln Thr Leu Ala Ile Tyr Gln Gln Ile
 50 55 60
 Leu Ile Asn Leu Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys
 85 90 95
 His Leu Pro Leu Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly Asp
 100 105 110
 Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser Pro
 130 135 140
 Gly Cys
 145

ES 2 630 031 T3

<210> 15
 <211> 147
 <212> PRT
 5 <213> *Macaca mulatta*
 <400> 15

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Ser Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1 5 10 15
 Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
 20 25 30
 Ser Lys Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
 35 40 45
 Val Leu Thr Leu Ser Gln Met Asp Gln Thr Leu Ala Ile Tyr Gln Gln
 50 55 60
 Ile Leu Ile Asn Leu Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp
 65 70 75 80
 Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Phe Ser Lys Ser
 85 90 95
 Cys His Leu Pro Leu Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly
 100 105 110
 Asp Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
 115 120 125
 Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser
 130 135 140
 Pro Gly Cys
 145

10
 <210> 16
 <211> 146
 <212> PRT
 <213> *Rattus sp.*
 15
 <400> 16

ES 2 630 031 T3

Val Pro Ile His Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ala
 20 25 30
 Arg Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile
 35 40 45
 Leu Ser Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile
 50 55 60
 Leu Thr Ser Leu Pro Ser Gln Asn Val Leu Gln Ile Ala His Asp Leu
 65 70 75 80
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys
 85 90 95
 Ser Leu Pro Gln Thr Arg Gly Leu Gln Lys Pro Glu Ser Leu Asp Gly
 100 105 110
 Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser Pro
 130 135 140
 Glu Cys
 145

5
 <210> 17
 <211> 147
 <212> PRT
 <213> *Rattus* sp.
 <400> 17

Met Val Pro Ile His Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1 5 10 15
 Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
 20 25 30
 Ala Arg Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
 35 40 45
 Ile Leu Ser Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln
 50 55 60
 Ile Leu Thr Ser Leu Pro Ser Gln Asn Val Leu Gln Ile Ala His Asp
 65 70 75 80
 Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Phe Ser Lys Ser
 85 90 95
 Cys Ser Leu Pro Gln Thr Arg Gly Leu Gln Lys Pro Glu Ser Leu Asp
 100 105 110
 Gly Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
 115 120 125
 Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser
 130 135 140
 Pro Glu Cys
 145

10

ES 2 630 031 T3

<210> 18
 <211> 145
 <212> PRT
 <213> *Ornithorhynchus anatinus*

5

<400> 18

```

Ile Ser Ile Glu Lys Ile Gln Ala Asp Thr Lys Thr Leu Thr Lys Thr
 1          5          10          15
Ile Ile Thr Arg Ile Ile Gln Leu Ser Thr Gln Asn Gly Val Ser Thr
          20          25          30
Asp Gln Arg Val Ser Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Asn Gln Gln Phe
          35          40          45
Gln Asn Leu Ala Asp Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile
          50          55          60
Leu Ser Ser Leu Pro Met Pro Asp Arg Thr Gln Ile Ser Asn Asp Leu
 65          70          75          80
Glu Asn Leu Arg Ser Leu Phe Ala Leu Leu Ala Thr Leu Lys Asn Cys
          85          90          95
Pro Phe Thr Arg Ser Asp Gly Leu Asp Thr Met Glu Ile Trp Gly Gly
          100          105          110
Ile Val Glu Glu Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Thr Leu Asp Arg
          115          120          125
Leu Arg Lys Ser Leu Lys Asn Ile Glu Lys Gln Leu Asp His Ile Gln
          130          135          140
Gly
145
  
```

<210> 19
 <211> 166
 <212> PRT
 <213> *Ornithorhynchus anatinus*

10

<400> 19

15

ES 2 630 031 T3

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

- <210> 20
- <211> 146
- <212> PRT
- <213> *Homo sapiens*
- <400> 20

ES 2 630 031 T3

Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ser
 20 25 30
 Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile
 35 40 45
 Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile
 50 55 60
 Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys
 85 90 95
 His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly
 100 105 110
 Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser Pro
 130 135 140
 Gly Cys
 145

<210> 21
 <211> 146
 5 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 21

Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Ala Gln Ser Val Ser Ser
 20 25 30
 Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile
 35 40 45
 Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile
 50 55 60
 Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys
 85 90 95
 His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly
 100 105 110
 Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser Pro
 130 135 140
 Gly Cys
 145

10
 <210> 22

ES 2 630 031 T3

<211> 145
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 22

Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Ser Val Ser Ser Lys
 20 25 30
 Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile Leu
 35 40 45
 Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile Leu
 50 55 60
 Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu
 65 70 75 80
 Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys His
 85 90 95
 Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly Val
 100 105 110
 Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
 115 120 125
 Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser Pro Gly
 130 135 140
 Cys
 145

10 <210> 23
 <211> 145
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 23

ES 2 630 031 T3

Val¹ Pro⁵ Ile⁵ Gln⁵ Lys⁵ Val⁵ Gln⁵ Asp¹⁰ Asp¹⁰ Thr¹⁰ Lys¹⁰ Thr¹⁰ Leu¹⁵ Ile¹⁵ Lys¹⁵ Thr¹⁵
 Ile²⁰ Val²⁰ Thr²⁰ Arg²⁰ Ile²⁰ Asn²⁵ Asp²⁵ Ile²⁵ Ser²⁵ His²⁵ Ala³⁰ Ser³⁰ Val³⁰ Ser³⁰ Ser³⁰ Lys³⁰
 Gln³⁵ Lys³⁵ Val³⁵ Thr³⁵ Gly⁴⁰ Leu⁴⁰ Asp⁴⁰ Phe⁴⁰ Ile⁴⁵ Pro⁴⁵ Gly⁴⁵ Leu⁴⁵ His⁴⁵ Pro⁴⁵ Ile⁴⁵ Leu⁴⁵
 Thr⁵⁰ Leu⁵⁰ Ser⁵⁰ Lys⁵⁰ Met⁵⁵ Asp⁵⁵ Gln⁵⁵ Thr⁵⁵ Leu⁵⁵ Ala⁶⁰ Val⁶⁰ Tyr⁶⁰ Gln⁶⁰ Gln⁶⁰ Ile⁶⁰ Leu⁶⁰
 Thr⁶⁵ Ser⁶⁵ Met⁷⁰ Pro⁷⁰ Ser⁷⁰ Arg⁷⁰ Asn⁷⁵ Val⁷⁵ Ile⁷⁵ Gln⁷⁵ Ile⁷⁵ Ser⁷⁵ Asn⁸⁰ Asp⁸⁰ Leu⁸⁰ Glu⁸⁰
 Asn⁸⁵ Leu⁸⁵ Arg⁸⁵ Asp⁸⁵ Leu⁹⁰ Leu⁹⁰ His⁹⁰ Val⁹⁰ Leu⁹⁰ Ala⁹⁵ Phe⁹⁵ Ser⁹⁵ Lys⁹⁵ Ser⁹⁵ Cys⁹⁵ His⁹⁵
 Leu¹⁰⁰ Pro¹⁰⁰ Trp¹⁰⁰ Ala¹⁰⁵ Ser¹⁰⁵ Gly¹⁰⁵ Leu¹⁰⁵ Glu¹⁰⁵ Thr¹⁰⁵ Leu¹¹⁰ Asp¹¹⁰ Ser¹¹⁰ Leu¹¹⁰ Gly¹¹⁰ Gly¹¹⁰ Val¹¹⁰
 Leu¹¹⁵ Glu¹¹⁵ Ala¹¹⁵ Ser¹²⁰ Gly¹²⁰ Tyr¹²⁰ Ser¹²⁰ Thr¹²⁰ Glu¹²⁰ Val¹²⁵ Val¹²⁵ Ala¹²⁵ Leu¹²⁵ Ser¹²⁵ Arg¹²⁵ Leu¹²⁵
 Gln¹³⁰ Gly¹³⁰ Ser¹³⁵ Leu¹³⁵ Gln¹³⁵ Asp¹³⁵ Met¹⁴⁰ Leu¹⁴⁰ Trp¹⁴⁰ Gln¹⁴⁰ Leu¹⁴⁰ Asp¹⁴⁰ Leu¹⁴⁵ Ser¹⁴⁵ Pro¹⁴⁵ Gly¹⁴⁵
 Cys¹⁴⁵

5 <210> 24
 <211> 147
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 24

Met¹ Val⁵ Pro⁵ Ile⁵ Gln⁵ Lys⁵ Val⁵ Gln¹⁰ Asp¹⁰ Asp¹⁰ Thr¹⁰ Lys¹⁰ Thr¹⁰ Leu¹⁵ Ile¹⁵ Lys¹⁵
 Thr²⁰ Ile²⁰ Val²⁰ Thr²⁰ Arg²⁰ Ile²⁵ Asn²⁵ Asp²⁵ Ile²⁵ Ser²⁵ His²⁵ Thr³⁰ Gln³⁰ Ser³⁰ Val³⁰ Ser³⁰
 Ser³⁵ Lys³⁵ Gln³⁵ Lys⁴⁰ Val⁴⁰ Thr⁴⁰ Gly⁴⁰ Leu⁴⁵ Asp⁴⁵ Phe⁴⁵ Ile⁴⁵ Pro⁴⁵ Gly⁴⁵ Leu⁴⁵ His⁴⁵ Pro⁴⁵
 Ile⁵⁰ Leu⁵⁰ Thr⁵⁵ Leu⁵⁵ Ser⁵⁵ Lys⁵⁵ Met⁶⁰ Asp⁶⁰ Gln⁶⁰ Thr⁶⁰ Leu⁶⁰ Ala⁶⁰ Val⁶⁰ Tyr⁶⁰ Gln⁶⁰ Gln⁶⁰
 Ile⁶⁵ Leu⁶⁵ Thr⁷⁰ Ser⁷⁰ Met⁷⁰ Pro⁷⁰ Ser⁷⁵ Arg⁷⁵ Asn⁷⁵ Val⁷⁵ Ile⁷⁵ Gln⁷⁵ Ile⁷⁵ Ser⁸⁰ Asn⁸⁰ Asp⁸⁰
 Leu⁸⁵ Glu⁸⁵ Asn⁸⁵ Leu⁸⁵ Arg⁹⁰ Asp⁹⁰ Leu⁹⁰ Leu⁹⁰ His⁹⁰ Val⁹⁰ Leu⁹⁵ Ala⁹⁵ Phe⁹⁵ Ser⁹⁵ Lys⁹⁵ Ser⁹⁵
 Cys¹⁰⁰ His¹⁰⁰ Leu¹⁰⁰ Pro¹⁰⁵ Trp¹⁰⁵ Ala¹⁰⁵ Ser¹⁰⁵ Gly¹⁰⁵ Leu¹¹⁰ Glu¹¹⁰ Thr¹¹⁰ Leu¹¹⁰ Asp¹¹⁰ Ser¹¹⁰ Leu¹¹⁵ Gly¹¹⁵
 Gly¹¹⁵ Val¹¹⁵ Leu¹²⁰ Glu¹²⁰ Ala¹²⁰ Ser¹²⁰ Gly¹²⁰ Tyr¹²⁰ Ser¹²⁰ Thr¹²⁰ Glu¹²⁵ Val¹²⁵ Val¹²⁵ Ala¹²⁵ Leu¹²⁵ Ser¹²⁵
 Arg¹³⁰ Leu¹³⁰ Gln¹³⁵ Gly¹³⁵ Ser¹³⁵ Leu¹³⁵ Gln¹³⁵ Asp¹⁴⁰ Met¹⁴⁰ Leu¹⁴⁰ Trp¹⁴⁰ Gln¹⁴⁰ Leu¹⁴⁰ Asp¹⁴⁰ Leu¹⁴⁵ Ser¹⁴⁵
 Pro¹⁴⁵ Gly¹⁴⁵ Cys¹⁴⁵

10 <210> 25

ES 2 630 031 T3

<211> 147
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 25

```

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
1      5      10      15
Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Ala Gln Ser Val Ser
20      25      30
Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
35      40      45
Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln
50      55      60
Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp
65      70      75      80
Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser
85      90      95
Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly
100      105      110
Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
115      120      125
Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser
130      135      140
Pro Gly Cys
145
    
```

<210> 26
 <211> 146
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10

<400> 26

15

```

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

ES 2 630 031 T3

115 120 125
 Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser Pro
 130 135 140
 Gly Cys
 145

- 5 <210> 27
- <211> 146
- <212> PRT
- <213> *Homo sapiens*
- <400> 27

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1 5 10 15
 Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Ala Ser Val Ser Ser
 20 25 30
 Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile
 35 40 45
 Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile
 50 55 60
 Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys
 85 90 95
 His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly
 100 105 110
 Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser Pro
 130 135 140
 Gly Cys
 145

- 10
- 15 <210> 28
- <211> 145
- <212> PRT
- <213> Desconocido
- <220>
- <223> Descripción de Desconocido: polipéptido de leptina de pinnípedo
- 20 <400> 28

ES 2 630 031 T3

Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile
 1 5 10 15
 Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Cys Ser Arg
 20 25 30
 Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val Arg
 35 40 45
 Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile Leu
 50 55 60
 Thr Ser Leu Gln Ser Arg Ser Val Val Gln Ile Ala Asn Asp Leu Ala
 65 70 75 80
 Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys Pro
 85 90 95
 Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn Val
 100 105 110
 Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
 115 120 125
 Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro Gly
 130 135 140
 Cys
 145

- <210> 29
- <211> 145
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 29

Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile
 1 5 10 15
 Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Cys Ser Arg
 20 25 30
 Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val Arg
 35 40 45

ES 2 630 031 T3

Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile Leu
 50 55 60
 Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu
 65 70 75 80
 Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys Pro
 85 90 95
 Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn Val
 100 105 110
 Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
 115 120 125
 Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro Gly
 130 135 140
 Cys
 145

5 <210> 30
 <211> 145
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
 <400> 30

Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile
 1 5 10 15
 Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Ser Ser Arg
 20 25 30
 Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val Arg
 35 40 45
 Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile Leu
 50 55 60
 Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu
 65 70 75 80
 Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys Pro
 85 90 95
 Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn Val
 100 105 110
 Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
 115 120 125
 Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro Gly
 130 135 140
 Cys
 145

15 <210> 31
 <211> 146
 <212> PRT
 <213> Desconocido

20 <220>
 <223> Descripción de Desconocido: polipéptido de leptina de pinnipedo

ES 2 630 031 T3

<400> 31

Met Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Cys Ser
 20 25 30
 Arg Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val
 35 40 45
 Arg Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile
 50 55 60
 Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Ser Val Val Gln Ile Ala Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Ala Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys
 85 90 95
 Pro Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn
 100 105 110
 Val Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro
 130 135 140
 Gly Cys

145

5

- <210> 32
- <211> 146
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

10

- <220>
- <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

15

<400> 32

ES 2 630 031 T3

Met Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Cys Ser
 20 25
 Arg Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val
 35 40 45
 Arg Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile
 50 55 60
 Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys
 85 90 95
 Pro Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn
 100 105 110
 Val Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro
 130 135 140
 Gly Cys
 145

- <210> 33
- <211> 146
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 33

ES 2 630 031 T3

Met Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Ser Ser
 20 25 30
 Arg Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val
 35 40 45
 Arg Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile
 50 55 60
 Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys
 85 90 95
 Pro Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn
 100 105 110
 Val Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro
 130 135 140
 Gly Cys
 145

<210> 34
 <211> 374
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

10

<400> 34

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

ES 2 630 031 T3

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 Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr
225 230 235 240

Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln
245 250 255

Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly
260 265 270

Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val
275 280 285

Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile
290 295 300

Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe
305 310 315 320

Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp
325 330 335

Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val
340 345 350

Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu
355 360 365

Asp Leu Ser Pro Gly Cys
370

<210> 35
 <211> 147
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

ES 2 630 031 T3

<400> 35

```

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
1      5      10
Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
20     25     30
Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
35     40     45
Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln
50     55
Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp
65     70     75     80
Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser
85     90     95
Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly
100    105    110
Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
115    120    125
Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser
130    135    140
Pro Gly Cys
145

```

5 <210> 36
 <211> 147
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 36

ES 2 630 031 T3

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1 5 10 15
 Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
 20 25 30
 Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
 35 40 45
 Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln
 50 55 60
 Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Cys Asn Asp
 65 70 75 80
 Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser
 85 90 95
 Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly
 100 105 110
 Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
 115 120 125
 Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser
 130 135 140
 Pro Gly Cys
 145

- <210> 37
- <211> 147
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 37

ES 2 630 031 T3

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1 5 10 15
 Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
 20 25 30
 Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
 35 40 45
 Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln
 50 55 60
 Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp
 65 70 75 80
 Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser
 85 90 95
 Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly
 100 105 110
 Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
 115 120 125
 Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser
 130 135 140
 Pro Gly Cys
 145

<210> 38

<211> 147

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 38

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1 5 10 15
 Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
 20 25 30
 Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly Leu His Pro

ES 2 630 031 T3

```

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

```

- 5 <210> 39
- <211> 147
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 39

```

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1                    5                    10
Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
 20                    25                    30
Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
 35                    40                    45
Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln
 50                    55                    60
Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp
 65                    70                    75                    80
Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser
 85                    90
Cys Ser Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly
 100                    105                    110
Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
 115                    120                    125
Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser
 130                    135                    140
Pro Glu Cys
 145

```

- 15 <210> 40
- <211> 147
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

ES 2 630 031 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 40

5

```

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1          5          10
Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
 20          25
Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
 35          40          45
Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln
 50          55          60
Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp
 65          70          75          80
Leu Gln Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser
 85          90          95
Cys Ser Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly
 100          105          110
Glu Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
 115          120          125
Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser
 130          135          140

Pro Glu Cys
 145
    
```

<210> 41

<211> 147

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

15

<400> 41

ES 2 630 031 T3

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1 5 10 15
 Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
 20 25 30
 Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
 35 40 45
 Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln
 50 55 60
 Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp
 65 70 75 80
 Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser
 85 90 95
 Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly
 100 105 110
 Glu Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
 115 120 125
 Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser
 130 135 140
 Pro Glu Cys
 145

<210> 42

<211> 147

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 42

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1 5 10 15
 Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
 20 25 30
 Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
 35 40 45
 Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln
 50 55 60
 Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp
 65 70 75 80
 Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser
 85 90 95
 Cys Ser Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly
 100 105 110
 Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
 115 120 125
 Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser
 130 135 140
 Pro Glu Cys
 145

ES 2 630 031 T3

<210> 43
 <211> 147
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

10 <400> 43

```

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1          5          10
Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
          20          25
Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
          35          40          45
Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln
          50          55          60
Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp
 65          70          75
Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser
          85          90          95
Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly
          100          105          110
Glu Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
          115          120          125
Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp Val Ser
          130          135          140
Pro Glu Cys
145
  
```

15 <210> 44
 <211> 147
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 44

ES 2 630 031 T3

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1 5 10 15
 Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
 20 25 30
 Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
 35 40 45
 Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln
 50 55 60
 Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp
 65 70 75 80
 Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser
 85 90 95
 Cys Ser Leu Pro Gln Thr Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly
 100 105 110
 Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
 115 120 125
 Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser
 130 135 140
 Pro Glu Cys
 145

- <210> 45
- <211> 147
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 45

ES 2 630 031 T3

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1 5 10 15
 Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
 20 25 30
 Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
 35 40 45
 Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln
 50 55 60
 Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp
 65 70 75 80
 Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser
 85 90 95
 Cys Ser Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly
 100 105 110
 Glu Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
 115 120 125
 Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser
 130 135 140
 Pro Glu Cys

145

- <210> 46
- <211> 147
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 46

ES 2 630 031 T3

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1 5 10 15
 Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
 20 25 30
 Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
 35 40 45
 Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln
 50 55 60
 Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp
 65 70 75 80
 Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser
 85 90 95
 Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly
 100 105 110
 Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
 115 120 125
 Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser
 130 135 140
 Pro Glu Cys
 145

<210> 47

<211> 147

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 47

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1 5 10 15
 Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
 20 25 30
 Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
 35 40 45
 Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln
 50 55 60
 Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp
 65 70 75 80
 Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser
 85 90 95
 Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly
 100 105 110
 Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
 115 120 125
 Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp Val Ser
 130 135 140
 Pro Glu Cys
 145

ES 2 630 031 T3

5 <210> 48
 <211> 147
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

10 <400> 48

```

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
1          5          10

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
          20          25

Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
          35          40          45

Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln
          50          55          60

Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp
65          70          75          80

Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser
          85          90          95

Cys Ser Leu Pro Gln Thr Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly
          100          105          110

Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
          115          120          125

Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp Val Ser
          130          135          140

Pro Glu Cys
145
  
```

15 <210> 49
 <211> 147
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

20 <400> 49

ES 2 630 031 T3

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1 5 10 15
 Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
 20 25 30
 Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
 35 40 45
 Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln
 50 55 60
 Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp
 65 70 75 80
 Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser
 85 90 95
 Cys Ser Leu Pro Gln Thr Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly
 100 105 110
 Glu Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
 115 120 125
 Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser
 130 135 140
 Pro Glu Cys
 145

- <210> 50
- <211> 147
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 50

ES 2 630 031 T3

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1 5 10 15
 Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
 20 25 30
 Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
 35 40 45
 Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln
 50 55 60
 Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp
 65 70 75 80
 Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser
 85 90 95
 Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly
 100 105 110
 Glu Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
 115 120 125
 Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser
 130 135 140
 Pro Gly Cys
 145

<210> 51

<211> 147

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 51

Met Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
 1 5 10 15
 Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
 20 25 30
 Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
 35 40 45
 Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln
 50 55 60
 Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp
 65 70 75 80
 Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser
 85 90 95
 Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly
 100 105 110
 Glu Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser
 115 120 125
 Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser
 130 135 140
 Pro Glu Cys
 145

ES 2 630 031 T3

<210> 52
 <211> 145
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

10 <400> 52

```

Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile
 1           5           10           15
Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Cys Ser Arg
 20           25           30
Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val Arg
 35           40           45
Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile Leu
 50           55           60
Thr Ser Leu Gln Ser Arg Ser Val Val Gln Ile Ala Asn Asp Leu Ala
 65           70           75           80
Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys Pro
 85           90           95
Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn Val
 100          105
Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
 115          120          125
Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro Gly
 130          135          140
Cys
145
  
```

15 <210> 53
 <211> 146
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 53

ES 2 630 031 T3

Met Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Cys Ser
 20 25 30
 Arg Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val
 35 40 45
 Arg Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile
 50 55 60
 Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Ser Val Val Gln Ile Ala Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Ala Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys
 85 90 95
 Pro Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn
 100 105 110
 Val Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro
 130 135 140
 Gly Cys
 145

<210> 54
 <211> 145
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

10

<400> 54

Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile
 1 5 10 15
 Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Cys Ser Arg
 20 25 30
 Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val Arg
 35 40 45
 Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile Leu
 50 55 60
 Thr Ser Leu Gln Ser Arg Ser Val Val Gln Ile Ala Asn Asp Leu Ala
 65 70 75 80
 Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys Pro
 85 90 95
 Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn Val
 100 105 110
 Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
 115 120 125
 Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro Gly
 130 135 140
 Cys
 145

ES 2 630 031 T3

<210> 55
 <211> 146
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

10 <400> 55

```

Met Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1          5          10          15
Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Cys Ser
 20          25          30
Arg Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val
 35          40          45
Arg Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile
 50          55          60
Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Ser Val Val Gln Ile Ala Asn Asp Leu
 65          70          75          80
Ala Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys
 85          90          95
Pro Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn
 100         105
Val Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115        120        125
Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro
 130        135        140
Gly Cys
 145
  
```

15 <210> 56
 <211> 145
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

20 <400> 56

ES 2 630 031 T3

Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile
 1 5 10 15
 Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Cys Ser Arg
 20 25 30
 Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val Arg
 35 40 45
 Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile Leu
 50 55 60
 Thr Ser Leu Gln Ser Arg Ser Val Val Gln Ile Ala Asn Asp Leu Ala
 65 70 75 80
 Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys Pro
 85 90 95
 Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn Val
 100 105 110
 Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
 115 120 125
 Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Asn Pro Gly
 130 135 140
 Cys
 145

<210> 57
 <211> 146
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

10

<400> 57

Met Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Cys Ser
 20 25 30
 Arg Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val
 35 40 45
 Arg Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile
 50 55 60
 Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Ser Val Val Gln Ile Ala Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Ala Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys
 85 90 95
 Pro Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn
 100 105 110
 Val Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Asn Pro
 130 135 140
 Gly Cys
 145

ES 2 630 031 T3

<210> 58
 <211> 145
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

10 <400> 58

```

Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile
1      5      10      15
Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ser Lys
20      25
Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile Leu
35      40      45
Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile Leu
50      55      60
Thr Ser Leu Gln Ser Arg Ser Val Val Gln Ile Ala Asn Asp Leu Ala
65      70      75      80
Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys Pro
85      90      95
Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn Val
100     105
Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
115     120     125
Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro Gly
130     135     140
Cys
145
    
```

15 <210> 59
 <211> 146
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 59

ES 2 630 031 T3

```

Met Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
1      5      10
Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ser
20     25
Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile
35     40     45
Leu Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile
50     55     60
Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Ser Val Val Gln Ile Ala Asn Asp Leu
65     70     75     80
Ala Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys
85     90     95
Pro Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn
100    105    110
Val Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
115    120    125
Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro
130    135    140
Gly Cys
145

```

- <210> 60
- <211> 145
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

- <400> 60

ES 2 630 031 T3

```

Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile
1          5          10          15

Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Cys Ser Arg
20          25          30

Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val Arg
35          40          45

Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile Leu
50          55          60

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

Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys His
85          90          95

Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly Val
100         105         110

Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
115         120         125

Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro Gly
130         135         140

Cys
145

```

- <210> 61
- <211> 146
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 61

```

Met Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
1          5          10          15

Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Cys Ser
20          25          30

Arg Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val
35          40          45

Arg Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile
50          55          60

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

Ala Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys
85          90          95

His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly
100         105         110

Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
115         120         125

Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro
130         135         140

Gly Cys
145

```

ES 2 630 031 T3

- <210> 62
- <211> 145
- <212> PRT
- 5 <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- 10 <400> 62

```

Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile
1          5          10
Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Cys Ser Arg
20          25
Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val Arg
35          40          45
Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile Leu
50          55          60
Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu
65          70          75
Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys Pro
85          90
Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn Val
100         105         110
Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
115        120        125
Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro Gly
130        135        140
Cys
145

```

- 15 <210> 63
- <211> 146
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 20 <220>
- <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 63

ES 2 630 031 T3

Met Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Cys Ser
 20 25 30
 Arg Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val
 35 40 45
 Arg Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile
 50 55 60
 Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys
 85 90 95
 Pro Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn
 100 105 110
 Val Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro
 130 135 140
 Gly Cys
 145

- <210> 64
- <211> 145
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 64

ES 2 630 031 T3

Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile
 1 5 10 15
 Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ser Lys
 20 25 30
 Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile Leu
 35 40 45
 Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile Leu
 50 55 60
 Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu
 65 70 75 80
 Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys Pro
 85 90 95
 Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn Val
 100 105 110
 Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
 115 120 125
 Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro Gly
 130 135 140
 Cys
 145

- <210> 65
- <211> 146
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 65

ES 2 630 031 T3

Met Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ser
 20 25 30
 Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile
 35 40 45
 Leu Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile
 50 55 60
 Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys
 85 90 95
 Pro Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn
 100 105 110
 Val Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro
 130 135 140
 Gly Cys
 145

<210> 66

<211> 145

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 66

ES 2 630 031 T3

Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile
 1 5 10 15
 Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Cys Ser Arg
 20 25 30
 Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val Arg
 35 40 45
 Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile Leu
 50 55 60
 Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu
 65 70 75 80
 Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys His
 85 90 95
 Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly Val
 100 105 110
 Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
 115 120 125
 Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro Gly
 130 135 140
 Cys
 145

- <210> 67
- <211> 146
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 67

Met Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Cys Ser
 20 25 30
 Arg Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val
 35 40 45
 Arg Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile
 50 55 60
 Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys
 85 90 95
 His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly
 100 105 110
 Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro
 130 135 140
 Gly Cys
 145

ES 2 630 031 T3

<210> 68
 <211> 145
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

10 <400> 68

```

Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile
 1      5      10      15
Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ser Lys
 20     25
Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile Leu
 35     40     45
Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile Leu
 50     55
Thr Ser Leu Gln Ser Arg Ser Val Val Gln Ile Ala Asn Asp Leu Ala
 65     70     75
Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys Pro
      85      90      95
Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn Val
 100    105
Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
 115    120    125
Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Asn Pro Gly
 130    135    140
Cys
 145
  
```

15 <210> 69
 <211> 146
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

20 <400> 69

ES 2 630 031 T3

Met Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ser
 20 25 30
 Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile
 35 40 45
 Leu Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile
 50 55 60
 Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Ser Val Val Gln Ile Ala Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Ala Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys
 85 90 95
 Pro Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn
 100 105 110
 Val Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Asn Pro
 130 135 140

Gly Cys
 145

- <210> 70
- <211> 145
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 70

ES 2 630 031 T3

Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile
 1 5 10 15
 Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ser Lys
 20 25 30
 Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile Leu
 35 40 45
 Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile Leu
 50 55 60
 Thr Ser Leu Gln Ser Arg Ser Val Val Gln Ile Ala Asn Asp Leu Ala
 65 70 75 80
 Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys His
 85 90 95
 Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly Val
 100 105 110
 Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
 115 120 125
 Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro Gly
 130 135 140
 Cys
 145

<210> 71
 <211> 146
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 71

Met Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ser
 20 25 30
 Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile
 35 40 45
 Leu Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile
 50 55 60
 Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Ser Val Val Gln Ile Ala Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Ala Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys
 85 90 95
 His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly
 100 105 110
 Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro
 130 135 140
 Gly Cys
 145

ES 2 630 031 T3

<210> 72
 <211> 145
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

10 <400> 72

```

Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile
1      5      10      15
Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ser Lys
20     25     30
Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile Leu
35     40     45
Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile Leu
50     55     60
Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu
65     70     75
Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys His
85     90     95
Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly Val
100    105   110
Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
115    120   125
Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro Gly
130    135   140
Cys
145
  
```

15 <210> 73
 <211> 146
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 73

ES 2 630 031 T3

Met Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ser
 20 25 30
 Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile
 35 40 45
 Leu Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile
 50 55 60
 Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys
 85 90 95
 His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly
 100 105 110
 Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro
 130 135 140
 Gly Cys
 145

- <210> 74
- <211> 145
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 74

ES 2 630 031 T3

Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile
 1 5 10 15
 Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Ser Ser Arg
 20 25 30
 Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val Arg
 35 40 45
 Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile Leu
 50 55 60
 Thr Ser Leu Gln Ser Arg Ser Val Val Gln Ile Ala Asn Asp Leu Ala
 65 70 75 80
 Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys Pro
 85 90 95
 Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn Val
 100 105 110
 Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
 115 120 125
 Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro Gly
 130 135 140
 Cys
 145

- <210> 75
- <211> 146
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 75

ES 2 630 031 T3

Met Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Ser Ser
 20 25 30
 Arg Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val
 35 40 45
 Arg Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile
 50 55 60
 Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Ser Val Val Gln Ile Ala Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Ala Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys
 85 90 95
 Pro Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn
 100 105 110
 Val Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro
 130 135 140
 Gly Cys
 145

- <210> 76
- <211> 145
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 76

Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile
 1 5 10 15
 Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Ser Ser Arg
 20 25 30
 Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val Arg
 35 40 45
 Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile Leu
 50 55 60
 Thr Ser Leu Gln Ser Arg Ser Val Val Gln Ile Ala Asn Asp Leu Ala
 65 70 75 80
 Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys Pro
 85 90 95
 Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn Val
 100 105 110
 Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
 115 120 125
 Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro Gly
 130 135 140
 Cys
 145

ES 2 630 031 T3

<210> 77
 <211> 146
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 77

10

```

Met Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1          5          10          15
Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Ser Ser
 20          25
Arg Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val
 35          40          45
Arg Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile
 50          55          60
Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Ser Val Val Gln Ile Ala Asn Asp Leu
 65          70          75
Ala Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys
 85          90          95
Pro Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn
 100         105         110
Val Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115         120         125
Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro
 130         135         140
Gly Cys
 145
    
```

<210> 78
 <211> 145
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

20

<400> 78

ES 2 630 031 T3

Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile
 1 5 10 15
 Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Ser Ser Arg
 20 25 30
 Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val Arg
 35 40 45
 Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile Leu
 50 55 60
 Thr Ser Leu Gln Ser Arg Ser Val Val Gln Ile Ala Asn Asp Leu Ala
 65 70 75 80
 Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys Pro
 85 90 95
 Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn Val
 100 105 110
 Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
 115 120 125
 Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Asn Pro Gly
 130 135 140
 Cys
 145

- <210> 79
- <211> 146
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 79

ES 2 630 031 T3

Met Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Ser Ser
 20 25 30
 Arg Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val
 35 40 45
 Arg Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile
 50 55 60
 Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Ser Val Val Gln Ile Ala Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Ala Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys
 85 90 95
 Pro Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn
 100 105 110
 Val Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Asn Pro
 130 135 140
 Gly Cys
 145

<210> 80
 <211> 145
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 80

Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile
 1 5 10 15
 Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Ser Ser Arg
 20 25 30
 Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val Arg
 35 40 45
 Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile Leu
 50 55 60
 Thr Ser Leu Gln Ser Arg Ser Val Val Gln Ile Ala Asn Asp Leu Ala
 65 70 75 80
 Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys His
 85 90 95
 Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly Val
 100 105 110
 Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
 115 120 125
 Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro Gly
 130 135 140
 Cys
 145

ES 2 630 031 T3

5 <210> 81
 <211> 146
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

10 <400> 81

```

Met Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
1           5           10           15
Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Ser Ser
20           25
Arg Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val
35           40           45
Arg Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile
50           55           60
Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Ser Val Val Gln Ile Ala Asn Asp Leu
65           70           75
Ala Asn Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Ala Ser Ala Lys Ser Cys
85           90           95
His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly
100          105          110
Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
115          120          125
Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro
130          135          140
Gly Cys
145
  
```

15 <210> 82
 <211> 145
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 82

ES 2 630 031 T3

Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile
 1 5 10 15
 Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Ser Ser Arg
 20 25 30
 Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val Arg
 35 40 45
 Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile Leu
 50 55 60
 Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu
 65 70 75 80
 Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys Pro
 85 90 95
 Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn Val
 100 105 110
 Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
 115 120 125
 Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro Gly
 130 135 140
 Cys
 145

- <210> 83
- <211> 146
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 83

ES 2 630 031 T3

Met Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10
 Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Ser Ser
 20 25
 Arg Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val
 35 40 45
 Arg Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile
 50 55 60
 Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys
 85 90 95
 Pro Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn
 100 105 110
 --
 Val Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro
 130 135 140
 Gly Cys
 145

- <210> 84
- <211> 145
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 84

ES 2 630 031 T3

Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile
 1 5 10 15
 Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Ser Ser Arg
 20 25 30
 Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val Arg
 35 40 45
 Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile Leu
 50 55 60
 Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu
 65 70 75 80
 Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys His
 85 90 95
 Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly Val
 100 105 110
 Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
 115 120 125
 Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro Gly
 130 135 140
 Cys
 145

<210> 85

<211> 146

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 85

Met Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 1 5 10 15
 Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Ser Ser
 20 25 30
 Arg Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val
 35 40 45
 Arg Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile
 50 55 60
 Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu
 65 70 75 80
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys
 85 90 95
 His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly
 100 105 110
 Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg
 115 120 125
 Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro
 130 135 140
 Gly Cys
 145

ES 2 630 031 T3

<210> 86
 <211> 37
 <212> PRT
 5 <213> *Rattus* sp.
 <400> 86

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val
 20 25 30
 --
 Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

10 <210> 87
 <211> 37
 <212> PRT
 15 <213> *Homo sapiens*
 <400> 87

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val
 20 25 30
 Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

20 <210> 88
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
 <400> 88

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val
 20 25 30
 Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

30 <210> 89
 <211> 32
 <212> PRT
 35 <213> *Homo sapiens*
 <400> 89

Cys Gly Asn Leu Ser Thr Cys Met Leu Gly Thr Tyr Thr Gln Asp Phe
 1 5 10 15
 Asn Lys Phe His Thr Phe Pro Gln Thr Ala Ile Gly Val Gly Ala Pro
 20 25 30

ES 2 630 031 T3

<210> 90
 <211> 32
 <212> PRT
 5 <213> *Oncorhynchus* sp.

<400> 90

Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu
 1 5 10 15
 His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Gly Thr Pro
 20 25 30

10 <210> 91
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 91

20 Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu
 1 5 10
 His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr
 20 25 30

25 <210> 92
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>
 <223> Hidrógeno del extremo N, grupo protector del extremo N o un enlazador a un resto potenciador de la duración

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Puede estar o no presente

40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (21)..(21)
 <223> Lys, Cys o Asn

45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (24)..(24)
 <223> Lys, Cys o Gly

50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 <223> Lys, Cys o Pro

55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (26)..(26)
 <223> Lys, Cys o Ile

ES 2 630 031 T3

- 5 <220>
<221> MOD_RES
<222> (27)..(27)
<223> Lys, Cys o Leu
- 10 <220>
<221> MOD_RES
<222> (28)..(29)
<223> Lys, Cys o Pro
- 15 <220>
<221> MOD_RES
<222> (31)..(31)
<223> Lys, Cys o Asn
- 20 <220>
<223> amino sustituido o no sustituido, alquilamino sustituido o no sustituido, dialquilamino sustituido o no sustituido, cicloalquilamino sustituido o no sustituido, arilamino sustituido o no sustituido, aralquilamino sustituido o no sustituido
- 25 <220>
<223> cont.del anterior; alquiloxi sustituido o no sustituido, ariloxi sustituido o no sustituido, aralquiloxi sustituido o no sustituido, o hidroxilo, del extremo C

```

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
1      5      10
Val His Ser Ser Xaa Asn Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Val
      20      25      30
Gly Ser Asn Thr Tyr
      35
    
```

- 30 <210> 93
<211> 36
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
- 35 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- 40 <220>
<223> NH2 del extremo C

```

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1      5      10
Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
      20      25      30
Ser Asn Thr Tyr
      35
    
```

- 45 <210> 94
<211> 37
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
- 50 <220>

ES 2 630 031 T3

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>

<223> NH2 del extremo C

5

<400> 94

```

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
1      5      10
Val Arg Ser Ser Lys Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val
20      25      30
Gly Ser Asn Thr Tyr
35
    
```

10

<210> 95

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>

<223> NH2 del extremo C

20

<400> 95

```

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1      5      10
Arg Ser Ser Lys Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
20      25      30
Ser Asn Thr Tyr
35
    
```

25

<210> 96

<211> 37

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>

<223> NH2 del extremo C

35

<400> 96

```

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
1      5      10
Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Lys Leu Pro Pro Thr Asn Val
20      25      30
Gly Ser Asn Thr Tyr
35
    
```

40

<210> 97

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45

<220>

ES 2 630 031 T3

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>

<223> NH2 del extremo C

5

<400> 97

```

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1          5          10          15
Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Lys Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
          20          25          30
Ser Asn Thr Tyr
          35
    
```

10

<210> 98

<211> 37

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>

<223> NH2 del extremo C

20

<400> 98

```

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
          5          10          15
Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Lys Val
          20          25          30
Gly Ser Asn Thr Tyr
          35
    
```

25

<210> 99

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>

<223> NH2 del extremo C

35

<400> 99

```

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1          5          10          15
Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Lys Val Gly
          20          25          30
Ser Asn Thr Tyr
          35
    
```

40

<210> 100

<211> 37

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 630 031 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

5

<220>

<223> NH2 del extremo C

<400> 100

```

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1      5      10      15
Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val
      20      25      30
Gly Ser Asn Thr Tyr
      35
    
```

10

<210> 101

<211> 36

<212> PRT

15

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

20

<220>

<223> NH2 del extremo C

<400> 101

```

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1      5      10      15
His Ser Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
      20      25      30
Ser Asn Thr Tyr
      35
    
```

25

<210> 102

<211> 36

<212> PRT

30

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

35

<220>

<223> NH2 del extremo C

<400> 102

```

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1      5      10      15
His Ser Ser Lys Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
      20      25      30
Ser Asn Thr Tyr
      35
    
```

40

<210> 103

<211> 36

<212> PRT

45

<213> Secuencia artificial

ES 2 630 031 T3

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

5 <220>
 <223> NH2 del extremo C

<400> 103

```

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1          5          10          15
His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Lys Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
          20          25          30
Ser Asn Thr Tyr
          35
    
```

10 <210> 104
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

20 <220>
 <223> NH2 del extremo C

<400> 104

```

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1          5          10          15
His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Lys Val Gly
          20          25          30
Ser Asn Thr Tyr
          35
    
```

25 <210> 105
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

35 <220>
 <223> NH2 del extremo C

<400> 105

```

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1          5          10          15
His Ser Ser Asn Asn Phe Lys Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
          20          25          30
    
```

40 Ser Asn Thr Tyr
 35

<210> 106
 <211> 36
 <212> PRT

ES 2 630 031 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

5

<220>

<223> NH2 del extremo C

<400> 106

10

```

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1      5      10      15
His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Lys Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
      20      25      30
Ser Asn Thr Tyr
      35
    
```

<210> 107

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

20

<220>

<223> NH2 del extremo C

<400> 107

25

```

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1      5      10      15
His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Lys Pro Pro Thr Asn Val Gly
      20      25      30
Ser Asn Thr Tyr
      35
    
```

<210> 108

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

35

<220>

<223> NH2 del extremo C

<400> 108

40

```

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1      5      10      15
His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Lys Pro Thr Asn Val Gly
      20      25      30
Ser Asn Thr Tyr
      35
    
```

<210> 109

<211> 36

<212> PRT

45

ES 2 630 031 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

5

<220>

<223> NH2 del extremo C

<400> 109

10

```

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1      5      10
His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Lys Thr Asn Val Gly
      20      25
Ser Asn Thr Tyr
      35
    
```

<210> 110

<211> 37

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

20

<220>

<223> NH2 del extremo C

<400> 110

25

```

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
1      5      10
Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val
      20      25
Gly Ser Asn Thr Tyr
      35
    
```

<210> 111

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

35

<400> 111

```

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1      5      10
His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val Gly
      20      25
Ser Asn Thr Tyr
      35
    
```

40

<210> 112

<211> 37

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 630 031 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 112

5

```

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1      5      10
Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val
      20      25
Gly Ser Asn Thr Tyr
      35
    
```

<210> 113

<211> 37

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

15

<400> 113

```

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1      5      10
Val Arg Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Ser Thr Asn Val
      20      25
Gly Ser Asn Thr Tyr
      35
    
```

20

<210> 114

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 114

```

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1      5      10
Arg Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Ser Thr Asn Val Gly
      20      25
Ser Asn Thr Tyr
      35
    
```

30

<210> 115

<211> 37

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

40

<400> 115

ES 2 630 031 T3

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Val Arg Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val
 20 25 30
 Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

- <210> 116
- <211> 36
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 116

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15
 Arg Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
 20 25 30
 Ser Asn Thr Tyr
 35

- 15 <210> 117
- <211> 36
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 20 <220>
- <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 117

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15
 His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
 20 25 30
 Ser Asn Thr Tyr
 35

- 25 <210> 118
- <211> 37
- <212> PRT
- 30 <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- 35 <400> 118

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val
 20 25 30
 Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

<210> 119

ES 2 630 031 T3

<211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
 <400> 119

```

Lys Asp Asn Thr Ala Thr Lys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
1      5      10
Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Pro Ser Thr Asn Val
      20      25      30
Gly Ser Asn Thr Tyr
      35
    
```

10 <210> 120
 <211> 36
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

20 <400> 120

```

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1      5      10
His Ser Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val Gly
      20      25      30
Ser Asn Thr Tyr
      35
    
```

25 <210> 121
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 121

```

Ala Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
1      5      10
Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val
      20      25      30
Gly Ser Asn Thr Tyr
      35
    
```

35 <210> 122
 <211> 37
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

45 <400> 122

ES 2 630 031 T3

Lys Ala Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val
 20 25 30
 Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

5 <210> 123
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
 <400> 123

Lys Ala Asn Thr Ala Thr Ala Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val
 20 25 30
 Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

15 <210> 124
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
 <400> 124

Ser Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val
 20 25 30
 Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

25 <210> 125
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
 <400> 125

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Pro Thr Asn Val
 20 25 30
 Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

<210> 126

ES 2 630 031 T3

<211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
 <400> 126

```

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1      5      10
Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Ser Thr Asn Val
      20      25      30
Gly Ser Asn Thr Tyr
      35
    
```

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

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

20 <400> 127

```

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1      5      10
His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Ser Thr Asn Val Gly
      20      25      30
Ser Asn Thr Tyr
      35
    
```

25 <210> 128
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 128

```

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1      5      10
Val His Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val
      20      25      30
Gly Ser Asn Thr Tyr
      35
    
```

35 <210> 129
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 129

ES 2 630 031 T3

```

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
1      5      10
Val His Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Ser Thr Asn Val
20      25
Gly Ser Asn Thr Tyr
35

```

- 5 <210> 130
- <211> 36
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 130

```

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1      5      10
His Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Ser Thr Asn Val Gly
20      25      30
Ser Asn Thr Tyr
35

```

- 15 <210> 131
- <211> 37
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 20 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 131

```

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
1      5      10
Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Ser Thr Asn Val
20      25      30
Gly Ser Asn Thr Tyr
35

```

- 30 <210> 132
- <211> 37
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 35 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <400> 132

```

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
1      5      10
Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val
20      25      30
Gly Ser Asn Thr Tyr
35

```

ES 2 630 031 T3

5 <210> 133
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

10 <400> 133

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu

1 5 10 15

Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Ile Leu Pro Ser Thr Asn Val
 20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

15 <210> 134
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 134

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1 5 10 15

Ile His Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val
 20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

25 <210> 135
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400>135

35 Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1 5 10 15

Ile His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val
 20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

40 <210> 136
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 630 031 T3

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 136

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Ile
 1 5 10 15
 His Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
 20 25 30
 Ser Asn Thr Tyr
 35

5

<210> 137

<211> 37

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

15

<400> 137

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Ile Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val
 20 25 30
 Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

20

<210> 138

<211> 37

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 138

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Ile Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Ala Val Leu Ser Pro Thr Asn Val
 20 25 30
 Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

30

<210> 139

<211> 37

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 139

40

ES 2 630 031 T3

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Ile Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val
 20 25 30
 Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

5 <210> 140
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
 <400> 140

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Thr Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Val His Ser Ser His Asn Leu Gly Ala Ala Leu Leu Pro Thr Asp Val
 20 25 30
 Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

15 <210> 141
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
 <400> 141

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Thr Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Val His Ser Ser His Asn Leu Gly Ala Ala Leu Ser Pro Thr Asp Val
 20 25 30
 Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

25 <210> 142
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
 35 <400> 142

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Thr Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15
 His ser ser His Asn Leu Gly Ala Ala Leu Pro ser Thr Asp Val Gly
 20 25 30
 Ser Asn Thr Tyr
 35

ES 2 630 031 T3

5 <210> 143
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
 10 <400> 143

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Thr Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Val Arg Ser Ser His Asn Leu Gly Ala Ala Leu Ser Pro Thr Asp Val
 20 25 30
 Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

15 <210> 144
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
 <400> 144

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Thr Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Val Arg Ser Ser His Asn Leu Gly Ala Ile Leu Pro Pro Thr Asp Val
 20 25 30
 Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

25 <210> 145
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
 35 <400> 145

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Thr Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Val Arg Ser Ser His Asn Leu Gly Pro Ala Leu Pro Pro Thr Asp Val
 20 25 30
 Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

40 <210> 146
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

ES 2 630 031 T3

<220>
 <223> MPEG40KD del extremo N

5 <220>
 <223> NH2 del extremo C

<400> 146

```

      Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
      1      5      10
Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val
      20      25
Gly Ser Asn Thr Tyr
      35
  
```

10 <210> 147
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

20 <220>
 <223> mPEG40KD del extremo N

<220>
 <223> NH2 del extremo C

25 <400> 147

```

      Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
      1      5      10
Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
      20      25      30
Ser Asn Thr Tyr
      35
  
```

30 <210> 148
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (21)..(21)
 <223> Lys (mPEG40KD)

40 <220>
 <223> NH2 del extremo C

45 <400> 148

ES 2 630 031 T3

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Val Arg Ser Ser Lys Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val
 20 25 30
 Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

- <210> 149
- <211> 36
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <220>
- <221> MOD_RES
- <222> (20)..(20)
- 15 <223> Lys(mPEG40KD)
- <220>
- <223> NH2 del extremo C
- <400> 149
- 20

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15
 Arg Ser Ser Lys Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
 20 25 30
 Ser Asn Thr Tyr
 35

- <210> 150
- <211> 37
- 25 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 30 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <220>
- <221> MOD_RES
- <222> (26)..(26)
- 35 <223> Lys(mPEG40KD)
- <220>
- <223> NH2 del extremo C
- <400> 150
- 40

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Lys Leu Pro Pro Thr Asn Val
 20 25 30
 Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

- <210> 151
- <211> 36
- 45 <212> PRT

ES 2 630 031 T3

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

5

<220>
<221> MOD_RES
<222> (25)..(25)
<223> Lys(mPEG40KD)

10

<220>
<223> NH2 del extremo C

<400> 151

15

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1 5 10 15

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

Ser Asn Thr Tyr
35

<210> 152
<211> 37
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

20

<220>
<221> MOD_RES
<222> (31)..(31)
<223> Lys(mPEG40KD)

25

<220>
<223> NH2 del extremo C

<400> 152

30

35

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
1 5 10 15

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

Gly Ser Asn Thr Tyr
35

<210> 153
<211> 36
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

40

<220>
<221> MOD_RES
<222> (30)..(30)
<223> Lys(mPEG40KD)

45

<220>
<223> NH2 del extremo C

50

ES 2 630 031 T3

<400> 153

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15
 Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Lys Val Gly
 20 25 30
 Ser Asn Thr Tyr
 35

- 5 <210> 154
- <211> 37
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
- <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- 15 <220>
- <221> MOD_RES
- <222> (26)..(26)
- <223> Lys (mPEG40KD, en forma de Y)
- 20 <220>
- <223> NH2 del extremo C
- <400> 154

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Lys Leu Pro Pro Thr Asn Val
 20 25 30
 Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

- 25 <210> 155
- <211> 36
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 30 <220>
- <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- 35 <220>
- <221> MOD_RES
- <222> (20)..(20)
- <223> Lys(mPEG40KD)
- 40 <220>
- <223> NH2 del extremo C
- <400> 155

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15
 His Ser Ser Lys Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
 20 25 30
 Ser Asn Thr Tyr
 35

45

ES 2 630 031 T3

5
 <210> 156
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

10
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 <223> Lys(mPEG40KD)

15
 <220>
 <223> NH2 del extremo C
 <400> 156

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15
 His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Lys Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
 20 25 30
 Ser Asn Thr Tyr
 35

20
 <210> 157
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

30
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (30)..(30)
 <223> Lys(mPEG40KD)

35
 <220>
 <223> NH2 del extremo C
 <400> 157

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15
 His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Lys Val Gly
 20 25 30
 Ser Asn Thr Tyr
 35

40
 <210> 158
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

50
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 <223> Lys (mPEG40KD, en forma de Y)

ES 2 630 031 T3

<220>
<223> NH2 del extremo C

5 <400> 158

```

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1      5      10
His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Lys Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
      20      25      30
Ser Asn Thr Tyr
      35
    
```

10 <210> 159
<211> 36
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

20 <220>
<221> MOD_RES
<222> (23)..(23)
<223> Lys(mPEG40KD)

<220>
<223> NH2 del extremo C

25 <400> 159

```

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1      5      10
His Ser Ser Asn Asn Phe Lys Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
      20      25      30
Ser Asn Thr Tyr
      35
    
```

30 <210> 160
<211> 36
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

40 <220>
<221> MOD_RES
<222> (24)..(24)
<223> Lys(mPEG40KD)

<220>
<223> NH2 del extremo C

45 <400> 160

ES 2 630 031 T3

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15
 His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Lys Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
 20 25 30
 Ser Asn Thr Tyr
 35

- 5 <210> 161
- <211> 36
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
- <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- 15 <220>
- <221> MOD_RES
- <222> (26)..(26)
- <223> Lys(mPEG40KD)
- 20 <220>
- <223> NH2 del extremo C
- <400> 161

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15
 His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Lys Pro Pro Thr Asn Val Gly
 20 25 30
 Ser Asn Thr Tyr
 35

- 25 <210> 162
- <211> 36
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 30 <220>
- <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- 35 <220>
- <221> MOD_RES
- <222> (27)..(27)
- <223> Lys(mPEG40KD)
- 40 <220>
- <223> NH2 del extremo C
- <400> 162

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15
 His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Lys Pro Thr Asn Val Gly
 20 25 30
 Ser Asn Thr Tyr
 35

<210> 163

ES 2 630 031 T3

<211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

10 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys(mPEG40KD)

15 <220>
 <223> NH2 del extremo C
 <400> 163

```

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1          5          10          15
His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Lys Thr Asn Val Gly
          20          25          30
Ser Asn Thr Tyr
          35
  
```

20 <210> 164
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Desconocido

25 <220>
 <223> Descripción de Desconocido: péptido de motivo conservado de leptina
 <400> 164

30 Gly Leu Asp Phe Ile Pro
 1 5

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un polipéptido quimérico que comprende un polipéptido de leptina de pinnípedo de tipo silvestre en el que al menos una región contigua de 1-30 aminoácidos de una secuencia de leptina de pinnípedo de tipo silvestre se ha sustituido por una región contigua de 1-30 aminoácidos de una secuencia de leptina humana madura y en donde el polipéptido quimérico comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 95 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:32.
- 10 2. El polipéptido quimérico de la reivindicación 1, en donde el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:32.
3. El polipéptido quimérico de la reivindicación 1, en donde el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:30.
- 15 4. El polipéptido quimérico de la reivindicación 1, en donde el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33.
- 20 5. Un polipéptido quimérico de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para su uso en el tratamiento de una enfermedad o un trastorno en un sujeto.
- 25 6. El polipéptido quimérico para usar de acuerdo con la reivindicación 5, en donde la enfermedad o el trastorno se seleccionan entre el grupo que consiste en: lipodistrofia, dislipidemia, hiperlipidemia, obesidad, amenorrea hipotalámica, enfermedad de Alzheimer, deficiencia de leptina, enfermedad del hígado graso, diabetes (incluyendo tipo I y tipo II), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), enfermedad del hígado graso no alcohólica (NAFLD), síndrome metabólico X y enfermedad de Huntington.
- 30 7. El polipéptido quimérico para usar de acuerdo con la reivindicación 5 o la reivindicación 6, en donde la enfermedad o el trastorno son lipodistrofia, dislipidemia, hiperlipidemia, obesidad, amenorrea hipotalámica, enfermedad de Alzheimer, deficiencia de leptina, enfermedad del hígado graso o diabetes.
- 35 8. El polipéptido quimérico para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5-7, en donde la enfermedad o el trastorno son diabetes de tipo I o diabetes de tipo II.
9. El polipéptido quimérico para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5-7, en donde la enfermedad o el trastorno son obesidad.
- 40 10. El polipéptido quimérico para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5-7, en donde la enfermedad o el trastorno son lipodistrofia o deficiencia en leptina.
11. Una composición farmacéutica que comprende el polipéptido quimérico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

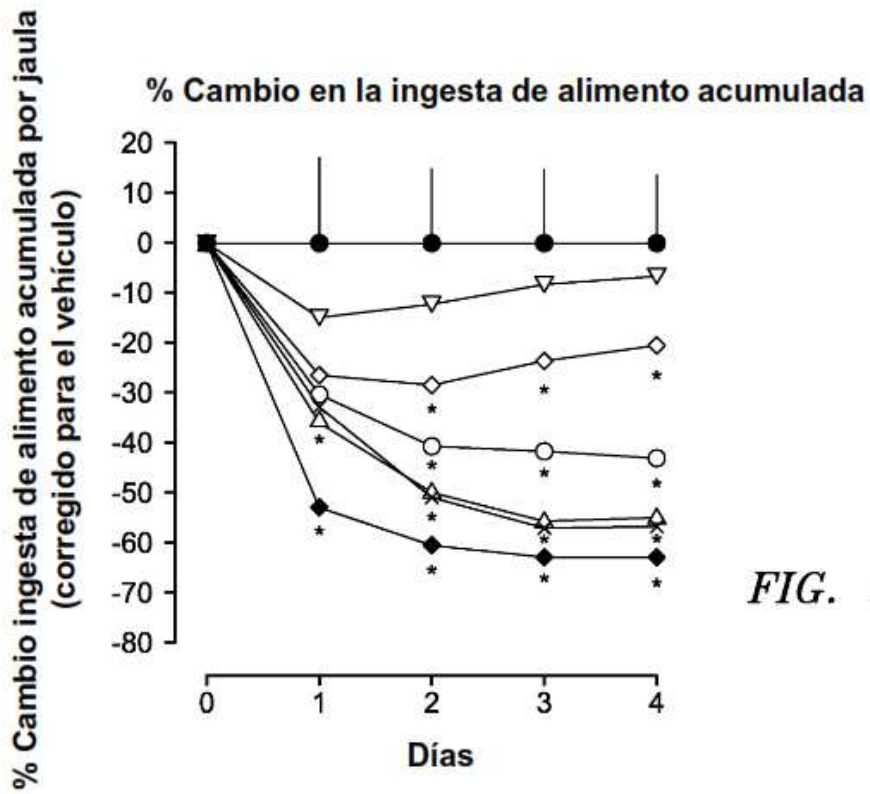


FIG. 1A

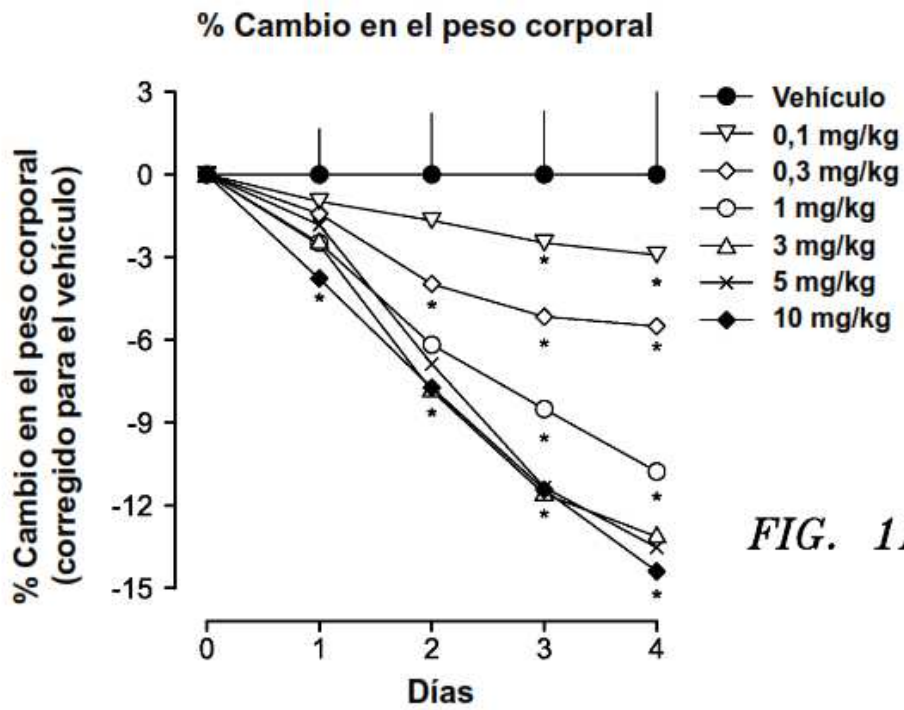


FIG. 1B

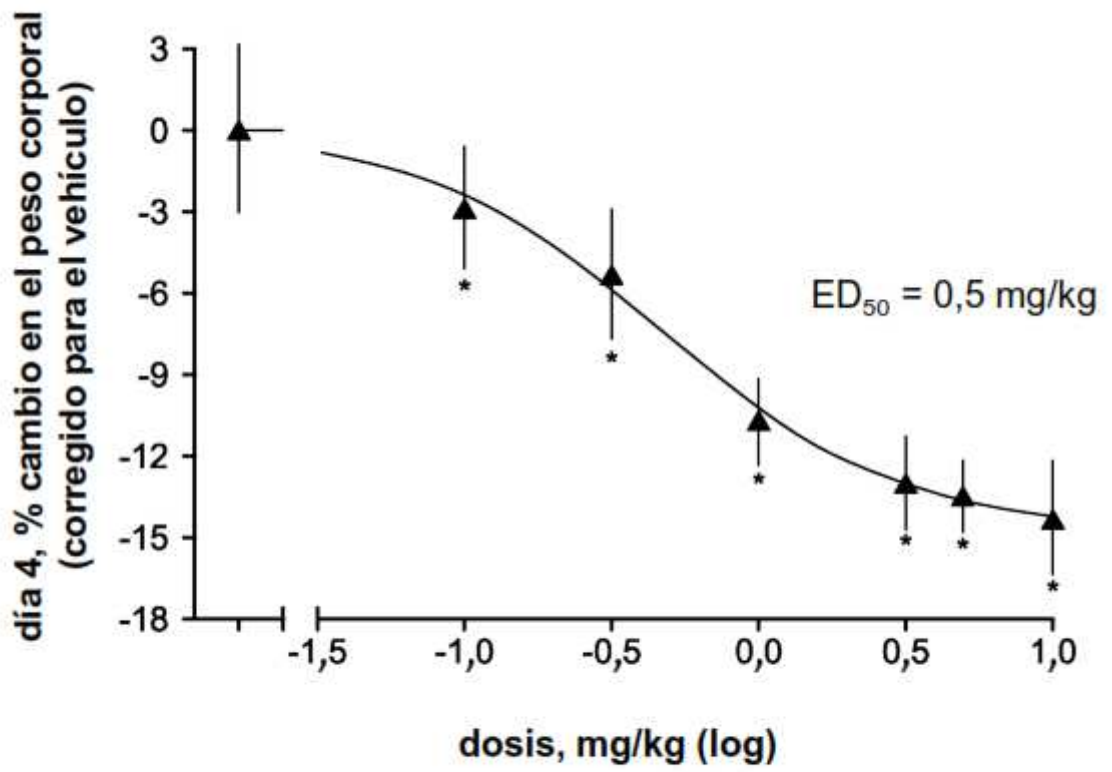


FIG. 1C

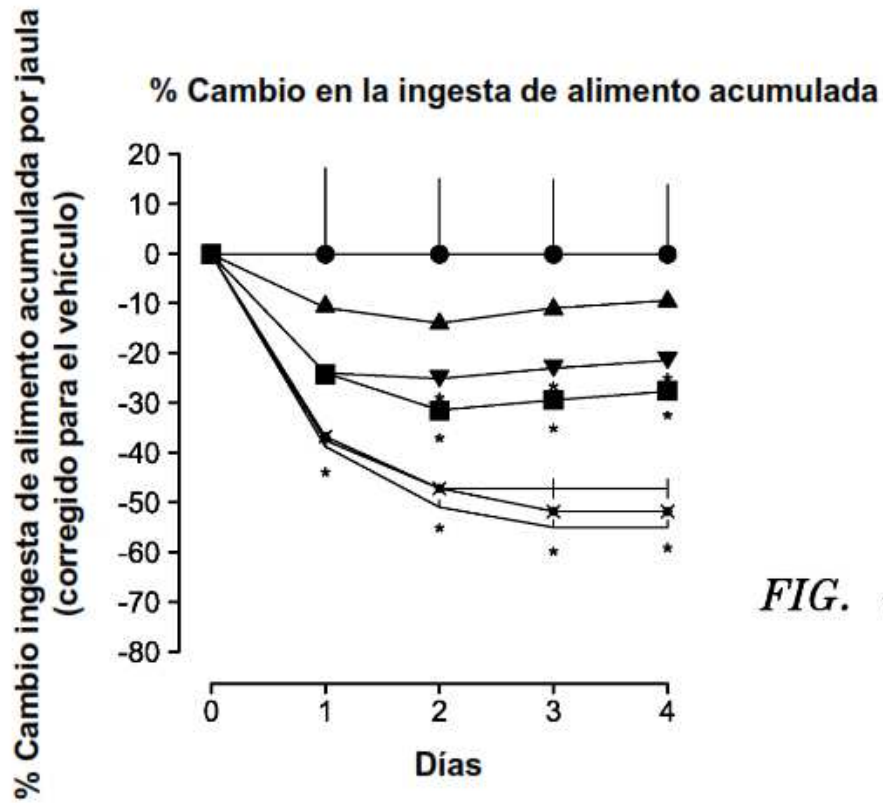


FIG. 2A

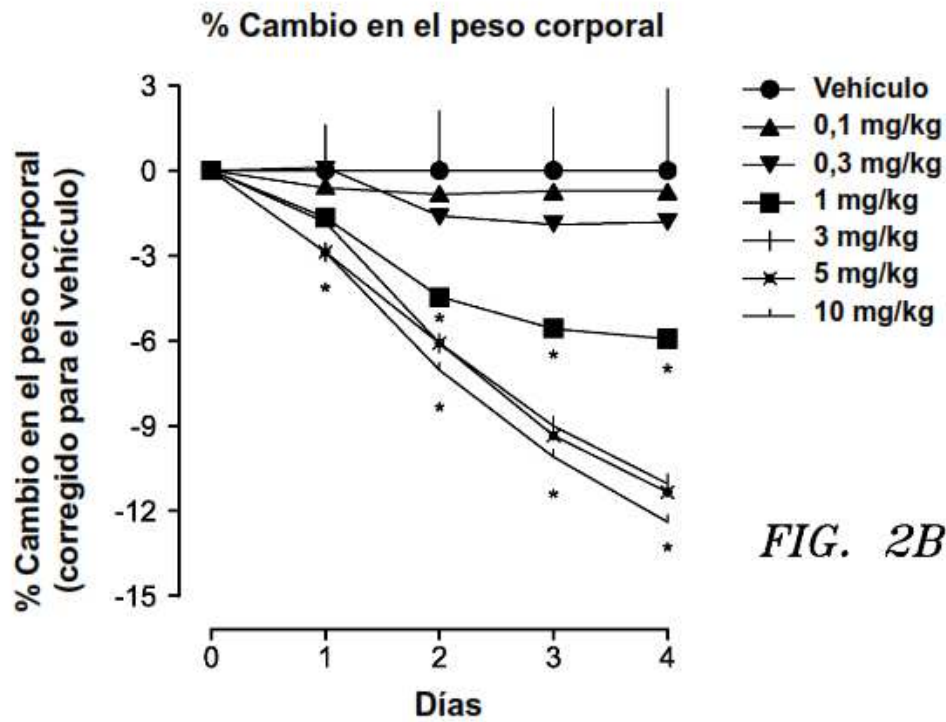


FIG. 2B

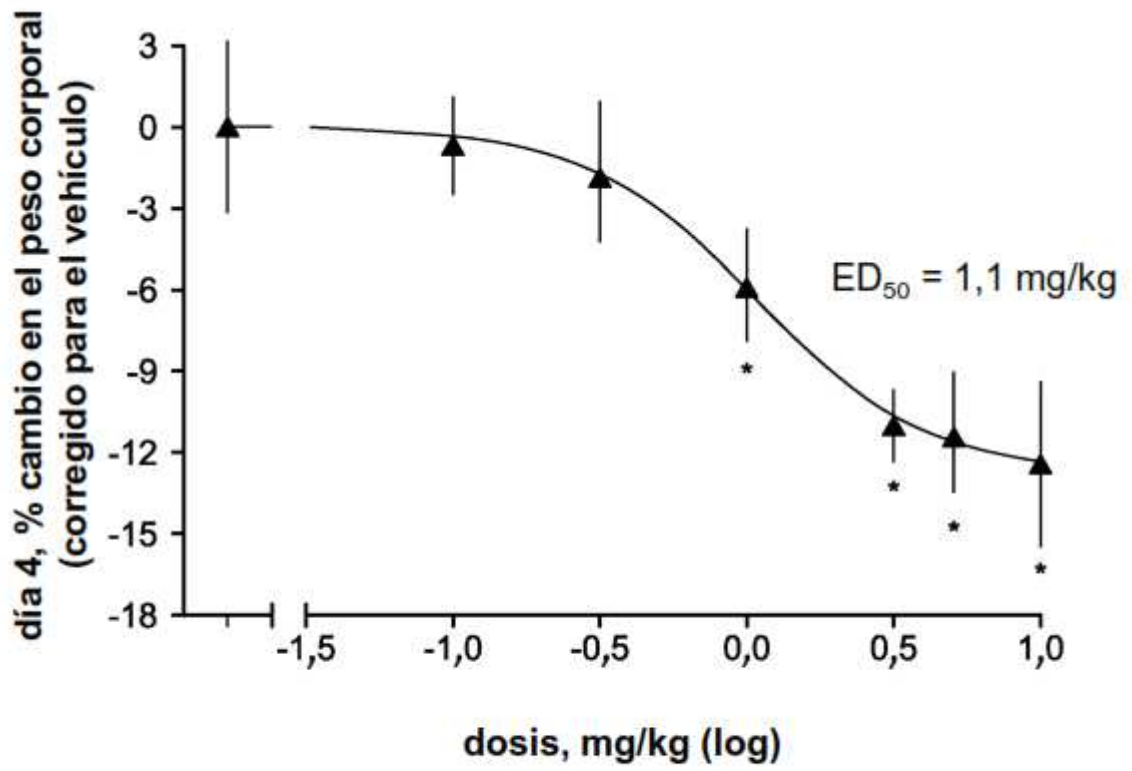


FIG. 2C