(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 632 742**

(51) Int. CI.:

A61K 38/18 (2006.01)
C07K 14/50 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.05.2010 PCT/US2010/033478**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **11.11.2010 WO10129503**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.05.2010 E 10718381 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.04.2017 EP 2427208**

(54) Título: **Mutantes de FGF21 y usos de los mismos**

(30) Prioridad:

05.05.2009 US 175736 P
09.12.2009 US 285118 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.09.2017

(73) Titular/es:

AMGEN, INC (100.0%)
One Amgen Center Drive
Thousand Oaks, CA 91320-1799, US

(72) Inventor/es:

BELOUSKI, EDWARD JOHN;
ELLISON, MURIELLE MARIE;
HAMBURGER, AGNES EVA;
HECHT, RANDY IRA;
LI, YUE-SHENG;
MICHAELS, MARK LEO;
SUN, JEONGHOON y
XU, JING

(74) Agente/Representante:

MILTENYI, Peter

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

Mutantes de FGF21 y usos de los mismos

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud estadounidense provisional n.º 61/175.736 presentada el 5 de mayo de 2009 y la solicitud estadounidense provisional n.º 61/285.118 presentada el 9 de diciembre de 2009.

Campo de la invención

La invención se refiere a moléculas de ácido nucleico que codifican para polipéptidos mutantes de FGF21, a polipéptidos mutantes de FGF21, a composiciones farmacéuticas que comprenden polipéptidos mutantes de FGF21, y a métodos para tratar trastornos metabólicos usando tales ácidos nucleicos, polipéptidos o composiciones farmacéuticas.

Antecedentes de la invención

FGF21 es un polipéptido secretado que pertenece a una subfamilia de factores de crecimiento de fibroblastos (FGF) que incluye FGF19, FGF21 y FGF23 (Itoh *et al*, 2004, Trend Genet. 20: 563-69). FGF21 es un FGF atípico porque es independiente de heparina y funciona como una hormona en la regulación del metabolismo de la glucosa, lípidos y energía.

FGF21 se aisló de una biblioteca de ADNc de hígado como un factor hepático secretado. Se expresa altamente en el hígado y el páncreas y es el único miembro de la familia de FGF que se expresa principalmente en el hígado. Ratones transgénicos que sobreexpresan FGF21 presentan fenotipos metabólicos de tasa de crecimiento lenta, niveles bajos de glucosa y triglicéridos en plasma, y una ausencia de diabetes tipo 2 asociada con la edad, hiperplasia de los islotes y obesidad. La administración farmacológica de proteína FGF21 recombinante en modelos de roedores y primates da como resultado niveles normalizados de glucosa en plasma, niveles reducidos de triglicéridos y colesterol y tolerancia a la glucosa y sensibilidad a la insulina mejoradas. Además, FGF21 reduce el peso corporal y la grasa corporal aumentando el gasto de energía, la actividad física y la tasa metabólica. La investigación experimental proporciona respaldo para la administración farmacológica de FGF21 para el tratamiento de diabetes tipo 2, obesidad, dislipidemia, y otros trastornos o estados metabólicos en seres humanos.

FGF21 humano tiene una corta semivida *in vivo*. En ratones, la semivida de FGF21 humano es de 1 a 2 horas, y en macacos cangrejeros, la semivida es de 2,5 a 3 horas. En el desarrollo de una proteína FGF21 para su uso como producto terapéutico en el tratamiento de diabetes tipo 2, sería deseable un aumento de la semivida. Las proteínas FGF21 que tienen una semivida mejorada permitirían una dosificación menos frecuente de los pacientes a los que se les administra la proteína. Tales proteínas se describen en el presente documento.

Los documentos WO2006/028595 y WO2006/065582 dan a conocer mutantes de FGF21 en la posición 167 y 121.

Sumario de la invención

El polipéptido de la invención comprende una sustitución en la posición 98, una sustitución en la posición 171 y una sustitución en la posición 180 de SEQ ID NO:4 y en el que: (a) la sustitución en la posición 171 es glicina; (b) la sustitución en la posición 98 es arginina; y (c) la sustitución en la posición 180 es ácido glutámico. En una realización adicional, el residuo en la posición 98 es arginina, el residuo en la posición 171 es glicina y el residuo en la posición 180 es un ácido glutámico. También se proporciona un polipéptido de fusión que comprende el polipéptido aislado fusionado con una secuencia de aminoácidos heteróloga. En una realización, la secuencia de aminoácidos heteróloga es un dominio de Fc o un fragmento del mismo, y puede comprender la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11. En otra realización, el polipéptido se fusiona con el dominio de Fc a través de un ligador y en aún otra realización, el ligador comprende GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:31). En una realización específica, el polipéptido comprende SEQ ID NO:47. También se da a conocer un multímero que comprende dos o más de los polipéptidos de fusión. También se da a conocer una composición farmacéutica que comprende el polipéptido aislado y un agente de formulación farmacéuticamente aceptable, tal como un hidrogel. En otro aspecto, se proporciona un método de tratamiento de un trastorno metabólico y en una realización comprende administrar a un paciente humano que lo necesita una composición farmacéutica proporcionada en el presente documento. En una realización, el trastorno metabólico es diabetes y en otra el trastorno metabólico es obesidad. También se proporcionan ácidos nucleicos que codifican para el polipéptido aislado y en una realización, el ácido nucleico comprende SEQ ID NO:46. El ácido nucleico puede estar presente en un vector, que puede estar presente a su vez en una célula huésped. En todavía otra realización, el polipéptido comprende: (a) un truncamiento amino-terminal de no más de 8 residuos de aminoácido, en el que el polipéptido puede disminuir la glucemia en un mamífero; (b) un truncamiento carboxi-terminal de no más de 12 residuos de aminoácido, en el que el polipéptido puede disminuir la glucemia en un mamífero; o (c) un truncamiento amino-terminal de no más de 8 residuos de aminoácido y un truncamiento carboxi-terminal de no más de 12 residuos de aminoácido, en el que el polipéptido puede disminuir la glucemia en un mamífero. En todavía otras realizaciones, el polipéptido se une covalentemente a uno o más polímeros, tales como PEG.

Realizaciones específicas de la invención resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción más detallada de

determinadas realizaciones y las reivindicaciones.

Breve descripción de los dibujos

Las figuras 1A-1B muestran los resultados de un ensayo de actividad ELK-luciferasa realizado con los mutantes de truncamiento de FGF21 7-181 y 8-181 (figura 1A) y los mutantes de truncamiento de FGF21 1-172, 1-171, 1-169 y 1-164 (figura 1B); cada panel muestra los resultados obtenidos para un control de FGF21 humano.

La figura 2 muestra los resultados de un ensayo de actividad ELK-luciferasa realizado con un control de FGF21 humano y los mutantes de truncamiento de FGF21 3-181, 4-181, 5-181, 7-181, 8-181, 1-180, 1-178, 1-177, 1-176, 1-175, 1-174, 1-173, 1-172, 9-181 y 1-149.

La figura 3 muestra los niveles de glucemia medidos en ratones a los que se les inyectó PBS (barra rellena), control de FGF21 humano (barra en blanco) o los mutantes de truncamiento de FGF21 8-181 (barra gris) y 9-181 (barra punteada).

La figura 4 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucemia medidos en ratones a los que se les inyectó PBS (círculos rellenos), un control de Fc-FGF21 (WT) (círculos en blanco) o proteínas de fusión de Fc-FGF21 truncadas que comprenden los residuos de aminoácido 5-181 (triángulos rellenos) o 7-181 (triángulos en blanco).

La figura 5 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucemia medidos en ratones a los que se les inyectó PBS (círculos rellenos), un control de FGF21-Fc (WT) (círculos en blanco), una proteína de fusión de FGF21-Fc truncada que comprende los residuos 1-175 (triángulos rellenos) o una proteína Fc-FGF21 truncada que comprende los residuos de aminoácido 1-171 (triángulos en blanco).

Las figuras 6A-6D muestran los resultados del análisis de cromatografía de líquidos-espectometría de masas (CL-EM) de una muestra de control de Fc-(G5)-FGF21 humano (SEQ ID NO: 107) (figura 6A) y muestras de Fc-(G5)-FGF21 extraídas de ratones 6 horas (muestra D6; figura 6B), 24 horas (muestra D24; figura 6C) y 48 horas (muestra D48; figura 6D) después de la inyección.

Las figuras 7A-7D muestran los resultados si el análisis de CL-EM de una muestra de control de FGF21-(G3)-Fc humano derivada de mamífero (SEQ ID NO: 105) (figura 7A) y muestras de FGF21-(G3)-Fc extraídas de ratones 6 horas (muestra E6; figura 7B), 24 horas (muestra E24; figura 7C) y 48 horas (muestra E48; figura 7D) después de la inyección.

Las figuras 8A-8D muestran los resultados del análisis de CL-EM de una muestra de control de Fc-(L15)-FGF21 (SEQ ID NO:49) (figura 8A) y muestras de Fc-(L15)-FGF21 extraídas de ratones 6 horas (figura 8B), 24 horas (figura 8C) y 48 horas (figura 8D) después de la inyección.

Las figuras 9A-9D muestran los resultados del análisis de CL-EM de una muestra de control de FGF21-(L15)-Fc (SEQ ID NO:41) (figura 9A) y muestras de FGF21-(L15)-Fc extraídas de ratones 6 horas (figura 9B), 24 horas (figura 9C) y 48 horas (figura 9D) después de la inyección.

Las figuras 10A-10B muestran los sitios de escisión identificados mediante el análisis de CL-EM de las proteínas de fusión de Fc-(L15)-FGF21 (figura 10A, SEQ ID NO:49) y FGF21-(L15)-Fc (figura 10B, SEQ ID NO:41) que se les inyectaron a ratones.

La figura 11 muestra los niveles de glucemia medidos en ratones a los que se les inyectó PBS (barra rellena), Fc-(L15)-FGF21 (SEQ ID NO:49) (barra en blanco) o los mutantes de Fc(L15)-FGF21, Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO:51) (barra gris), Fc-(L15)-FGF21 P171A (SEQ ID NO:53) (barra punteada), Fc-(L15)-FGF21 S172L (SEQ ID NO:55) (barra sombreada diagonalmente en blanco), Fc-(L15)-FGF21(G170E, P171A, S172L) (SEQ ID NO:59) (barra sombreada horizontalmente rellena) o Fc-(L15)-FGF21 G151A (SEQ ID NO:61) (barra sombreada diagonalmente en blanco).

La figura 12 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucemia medidos en ratones a los que se les inyectó PBS (círculos rellenos), Fc-(L15)-FGF21 (SEQ ID NO:49) (círculos en blanco) o los mutantes de Fc(L15)-FGF21, Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO:51) (triángulos rellenos), Fc-(L15)-FGF21 P171A (SEQ ID NO:53) (triángulos en blanco), Fc-(L15)-FGF21 S172L (SEQ ID NO:55) (rombos rellenos), Fc-(L15)-FGF21(G170E, P171A, S172L) (SEQ ID NO: 59) (rombos en blanco) o Fc-(L15)-FGF21 G151A (SEQ ID NO:61) (cuadrados rellenos).

La figura 13 muestra los niveles de glucemia medidos en ratones a los que se les inyectó PBS (barra rellena), Fc-(L15)-FGF21 (SEQ ID NO:49) (barra en blanco) o los mutantes de Fc(L15)-FGF21, Fc-(L15)-FGF21(P150A, G151A, I152V) (barra gris), Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO:51) (barra sombreada diagonalmente en blanco), Fc-(L15)-FGF21(G170E, P171A) (SEQ ID NO: 63) (barra sombreada diagonalmente gris) o Fc-(L15)-FGF21(G170E, S172L) (SEQ ID NO:67) (barra sombreada diagonalmente en blanco).

La figura 14 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucemia medidos en ratones a los que se les inyectó PBS (cuadrados rellenos), Fc-(L15)-FGF21 (SEQ ID NO:49) (cuadrados en blanco) o los mutantes de Fc(L15)-FGF21, Fc-(L15)-FGF21(P150A, G151A, I152V) (SEQ ID NO:65) (triángulos invertidos rellenos), Fc-(L15)-FGF21

G170E (SEQ ID NO:51) (triángulos invertidos en blanco), Fc-(L15)-FGF21(G170E, P171A) (SEQ ID NO:63) (círculos rellenos) o Fc-(L15)-FGF21(G170E, S172L) (SEQ ID NO:67) (círculos en blanco).

La figura 15 muestra los niveles de glucemia medidos en ratones a los que se les inyectó PBS (barra rellena) o los mutantes de Fc(L15)-FGF21, Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO:51) (barra en blanco), Fc-(L15)-FGF21 G170A (SEQ ID NO:69) (barra gris), Fc-(L15)-FGF21 G170C (SEQ ID NO:71) (barra sombreada en blanco), Fc-(L15)-FGF21 G170D (SEQ ID NO:73) (barra gris y blanca), Fc-(L15)-FGF21 G170N (SEQ ID NO:75) (barra sombreada rellena) o Fc-(L15)-FGF21 G170S (SEQ ID NO:77) (barra sombreada en blanco).

La figura 16 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucemia medidos en ratones a los que se les inyectó PBS (círculos rellenos) o los mutantes de Fc(L15)-FGF21, Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO:51) (círculos en blanco), Fc-(L15)-FGF21 G170A (SEQ ID NO:69) (triángulos rellenos), Fc-(L15)-FGF21 G170C (SEQ ID NO:71) (triángulos en blanco), Fc-(L15)-FGF21 G170D (SEQ ID NO:73) (rombos rellenos), Fc-(L15)-FGF21 G170N (SEQ ID NO:75) (rombos en blanco) o Fc-(L15)-FGF21 G170S (SEQ ID NO:77) (triángulos rellenos invertidos).

La figura 17 muestra los niveles de glucemia medidos en ratones a los que se les inyectó PBS (barra rellena) o los mutantes de Fc(L15)-FGF21, Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO:51) (barra en blanco), Fc-(L15)-FGF21 P171E (SEQ ID NO: 79) (barra gris), Fc-(L15)-FGF21 P171H (SEQ ID NO:81) (barra sombreada rellena), Fc-(L15)-FGF21 P171Q (SEQ ID NO:83) (barra sombreada en blanco), Fc-(L15)-FGF21 P171T (SEQ ID NO:85) (barra punteada) o Fc-(L15)-FGF21 P171Y (SEQ ID NO:87) (barra sombreada gris).

La figura 18 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucemia medidos en ratones a los que se les inyectó PBS (círculos rellenos) o los mutantes de Fc(L15)-FGF21, Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO:51) (círculos en blanco), Fc-(L15)-FGF21 P171E (SEQ ID NO:79) (triángulos rellenos), Fc-(L15)-FGF21 P171H (SEQ ID NO:81) (triángulos en blanco), Fc-(L15)-FGF21 P171Q (SEQ ID NO:83) (rombos rellenos), Fc-(L15)-FGF21 P171T (SEQ ID NO:85) (rombos en blanco) o Fc-(L15)-FGF21 P171Y (SEQ ID NO:87) (cuadrados rellenos).

Las figuras 19A-19D muestran los resultados del análisis de CL-EM de una muestra de control de Fc-(L15)-FGF21 (figura 19A, SEQ ID NO:49) y muestras extraídas de ratones a tiempo 6 horas (figura 19B), 24 horas (figura 19C) y 48 horas (figura 19D) después de la inyección.

Las figuras 20A-20D muestran los resultados del análisis de CL-EM de una muestra de control de Fc-(L15)-FGF21 G170E (figura 20A, SEQ ID NO:51) y muestras de Fc-(L15)-FGF21 G170E extraídas de ratones 6 horas (figura 20B), 24 horas (figura 20C) y 48 horas (figura 20D) después de la inyección.

Las figuras 21A-21D muestran los resultados del análisis de CL-EM de una muestra de control de Fc-(L15)-FGF21 P171A (figura 21A, SEQ ID NO:53) y muestras de Fc-(L15)-FGF21 P171A extraídas de ratones 6 horas (figura 21B), 24 (figura 21C) y 48 horas (figura 21D) después de la inyección.

Las figuras 22A-22D muestran los resultados del análisis de CL-EM de una muestra de control de Fc-(L15)-FGF21 S172L (figura 22A, SEQ ID NO:55) y muestras de Fc-(L15)-FGF21 S172L extraídas de ratones 6 horas (figura 22B), 24 horas (figura 22C) y 48 horas (figura 22D) después de la inyección.

Las figuras 23A-23D muestran los sitios de escisión identificados mediante el análisis de CL-EM de las proteínas de fusión de Fc-(L15)-FGF21 (figura 23A, SEQ ID NO:49), Fc-(L15)-FGF21 G170E (figura 23B, SEQ ID NO:51), Fc-(L15)-FGF21 P171A (figura 23C, SEQ ID NO:53) y Fc-(L15)-FGF21 S172L (figura 23D, SEQ ID NO:55) que se les inyectaron a ratones.

Las figuras 24A-24C muestran los resultados de un ensayo de actividad ELK-luciferasa realizado con los mutantes de FGF21, FGF21 L99R (SEQ ID NO: 109), FGF21 L99D (SEQ ID NO: 111) y FGF21 A111T (SEQ ID NO: 113) (figura 24A); los mutantes de FGF21, FGF21 A129D (SEQ ID NO: 115), FGF21 A129Q (SEQ ID NO: 117) y FGF21 A134K (SEQ ID NO: 119) (figura 24B); y los mutantes de FGF21, FGF21 A134Y(SEQ ID NO: 121), FGF21 A134E (SEQ ID NO: 123) y FGF21 A129K (SEQ ID NO: 125) (figura 24C); cada panel muestra los resultados obtenidos para un control de FGF21 humano.

Las figuras 25A-25D muestran los resultados de un ensayo de actividad ELK-luciferasa realizado con los mutantes de Fc(L15)-FGF21, Fc-(L15)-FGF21 P171G (SEQ ID NO:89), Fc-(L15)-FGF21 P171S (SEQ ID NO:91) y Fc-(L15)-FGF21 P171T (SEQ ID NO:85) (figura 25A); los mutantes de Fc(L15)-FGF21, Fc-(L15)-FGF21 P171Y (SEQ ID NO:87), Fc-(L15)-FGF21 P171W (SEQ ID NO:93) y Fc-(L15)-FGF21 P171C (SEQ ID NO:95) (figura 25B); Fc-(L15)-FGF21 (SEQ ID NO:49), Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E) (SEQ ID NO:97) y FGF21 A45K (SEQ ID NO:99) (figura 25C); y Fc-(L15)-FGF21 (SEQ ID NO:49), Fc-(L15)-FGF21 P171E (SEQ ID NO:79) y Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E) (SEQ ID NO:97) (figura 25D); cada panel muestra los resultados obtenidos para un control de FGF21 humano.

Las figuras 26A-B muestran la agregación en función del tiempo para FGF21 maduro silvestre y diversos mutantes de FGF21; la figura 26A muestra el cambio en el porcentaje de agregación para un control de FGF21 (WT, rombos rellenos) y FGF21 A45K (círculos rellenos) después de la incubación de proteína 65 mg/ml a 4ºC durante 1, 2 y 4 días, mientras que la figura 26B muestra el cambio en el porcentaje de agregación para un control de FGF21 (WT)

(SEQ ID NO:4) y FGF21 P78C (SEQ ID NO: 127), FGF21 P78R (SEQ ID NO: 129), FGF21 L86T (SEQ ID NO: 131), FGF21 L86C (SEQ ID NO: 133), FGF21 L98C (SEQ ID NO: 135), FGF21 L98R (SEQ ID NO: 137), FGF21 A111T (SEQ ID NO: 113), FGF21 A129D (SEQ ID NO: 115), FGF21 A129Q (SEQ ID NO:117), FGF21 A129K (SEQ ID NO: 125), FGF21 A134K (SEQ ID NO: 119), FGF21 A134Y (SEQ ID NO: 121) y FGF21 A134E (SEQ ID NO: 123) (todos etiquetados en la representación gráfica) después de la incubación de proteína 65 mg/ml a 4ºC durante 1, 6 y 10 días.

La figura 27 muestra los resultados de un ensayo de actividad ELK-luciferasa realizado con un control de FGF21 humano y los mutantes de FGF21, FGF21 A45K (SEQ ID NO:99), FGF21 L52T (SEQ ID NO: 139) y FGF21 L58E (SEQ ID NO: 141).

La figura 28A es una representación gráfica que muestra el cambio en los niveles de agregación para los mutantes de Fc-(L15)-FGF21, Fc-(L15)-FGF21(6-181, G170E) (SEQ ID NO: 101) (rombos rellenos), Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E) (SEQ ID NO:97) (cuadrados en blanco), Fc-(L15)-FGF21 P171E (SEQ ID NO:79) (triángulos rellenos), Fc-(L15)-FGF21 P171A (SEQ ID NO:53) (cruces), Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO:51) (triángulos en blanco) y un control de FGF21 (círculos rellenos) después de la incubación a 4ºC durante 1, 4 y 8 días, y la figura 28B es un diagrama de barras que también muestra los resultados de la incubación.

La figura 29 muestra los niveles de glucemia medidos en ratones a los que se les inyectó PBS (vehículo) (círculos rellenos) o los mutantes de Fc(L15)-FGF21, Fc-(L15)-FGF21(A45K, G170E) (SEQ ID NO:97) (círculos en blanco), Fc-(L15)-FGF21 (A45K, P171G) (SEQ ID NO: 103) (triángulos rellenos) o Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) (triángulos en blanco).

La figura 30 es una representación gráfica que muestra los resultados de un ensayo de actividad ELK-luciferasa realizado con FGF21 humano (círculos rellenos, línea continua), Fc-(L15)-FGF21 (SEQ ID NO:49) (círculos en blanco, línea continua) y Fc-(L15) FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) (triángulos rellenos, línea discontinua).

La figura 31 es una representación gráfica que muestra el porcentaje de agregados de alto peso molecular observados después de nueve días a temperatura ambiente (figura 31A) y a 4ºC (figura 31B) para FGF21 (SEQ ID NO:4) (círculos rellenos, línea continua), Fc-(L15)-FGF21 (SEQ ID NO:49) (círculo en blanco, línea continua) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) (triángulos rellenos, línea discontinua).

La figura 32 es una serie de perfiles de espectometría de masas MALDI que muestran los cambios observados en Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) en diversos puntos a lo largo de un periodo de tiempo de 168 horas.

La figura 33 es una representación gráfica que muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucemia en ratones ob/ob para cada uno de un control de vehículo de PBS (círculos en blanco), FGF21 maduro silvestre (cuadrados rellenos) y los mutantes de FGF21, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) (triángulos rellenos invertidos); Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182P) (SEQ ID NO: 143) (rombos en blanco) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182G) (SEQ ID NO: 145) (círculos rellenos).

La figura 34 es una representación gráfica que muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucemia en ratones ob/ob para cada uno de un control de vehículo de PBS (círculos rellenos) y los mutantes de FGF21, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) (triángulos rellenos); Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182G, 183G) (SEQ ID NO: 147) (triángulos en blanco), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182G) (SEQ ID NO: 145) (rombos rellenos) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182P) (SEQ ID NO: 143) (rombos en blanco).

La figura 35 es una representación gráfica que muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucemia en ratones ob/ob para cada uno de un control de vehículo de PBS (círculos en blanco) y los mutantes de FGF21, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) (cuadrados rellenos); Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, Y179S) (SEQ ID NO: 149) (triángulos en blanco), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, Y179A) (SEQ ID NO: 153) (triángulos rellenos invertidos), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180S) (SEQ ID NO: 155) (rombos en blanco) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180G) (SEQ ID NO: 157) (círculos rellenos).

La figura 36 es una representación gráfica que muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucemia en ratones ob/ob para cada uno de un control de vehículo de PBS (círculos rellenos) y los mutantes de FGF21, Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) (cuadrados en blanco); Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, Y179F) (SEQ ID NO: 151) (triángulos rellenos) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:57) (rombos en blanco).

La figura 37 es un diagrama que representa gráficamente el diseño del estudio para un estudio de aumento de la dosis de seis semanas realizado en monos *Rhesus*. En la figura, los símbolos sombreados indican extracciones de sangre en estado de ayuno y los símbolos punteados indican extracciones de sangre en estado alimentado.

Las figuras 38A-D es una serie de representaciones gráficas que representan cómo se aleatorizaron los monos *Rhesus* con respecto a los perfiles de OGTT, AUC de OGTT y peso corporal; la figura 38A representa los niveles de glucosa en el nivel inicial en OGTT1, el cuadrado relleno corresponde al grupo A, el círculo relleno, línea continua corresponde al grupo B y el círculo en blanco, línea discontinua corresponde al grupo C antes de que se asignaran

los compuestos o vehículo a cada grupo; la figura 38B representa los niveles de glucosa en el nivel inicial en OGTT2, el cuadrado relleno corresponde al grupo A, el círculo relleno, línea continua corresponde al grupo B y el círculo en blanco, línea continua corresponde al grupo C antes de que se asignaran los compuestos o vehículo a cada grupo; la figura 38C muestra los niveles de glucosa en el nivel inicial para las OGTT 1 y 2 mostrados en cuanto a AUC, la barra punteada corresponde al grupo A, la barra sombreada corresponde al grupo B y la barra en blanco corresponde al grupo C; y la figura 38D muestra el peso corporal en el nivel inicial, la barra punteada corresponde al grupo A, la barra sombreada corresponde al grupo B y la barra en blanco corresponde al grupo C.

La figura 39 es una representación gráfica que muestra el porcentaje de cambio en el peso corporal con respecto al nivel inicial del vehículo, FGF21 (SEQ ID NO:4) y Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) en monos *Rhesus*; las barras sombreadas 1 y 2 corresponden a las semanas 1 y 2 a la dosis baja, las barras en blanco 3 y 4 corresponden a las semanas 3 y 4 a la dosis media, las barras rellenas 5 y 6 corresponden a las semanas 5 y 6 a la dosis alta y las barras punteadas 7, 8 y 9 corresponden a las semanas 7-9 durante el periodo de lavado.

La figura 40 es una representación gráfica que muestra el porcentaje de cambio en el nivel de insulina en estado de ayuno con respecto al nivel inicial del vehículo, FGF21 (SEQ ID NO:4) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) en los niveles de insulina en estado de ayuno en monos *Rhesus*; las barras sombreadas 1 y 2 corresponden a las semanas 1 y 2 a la dosis baja, las barras en blanco 3 y 4 corresponden a las semanas 3 y 4 a la dosis media, las barras rellenas 5 y 6 corresponden a las semanas 5 y 6 a la dosis alta y las barras punteadas 7 y 8 corresponden a las semanas 7 y 8 durante el periodo de lavado.

La figura 41 es una representación gráfica que muestra los efectos del vehículo, FGF21 (SEQ ID NO:4) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43), administrados a la dosis alta, sobre los niveles de insulina en estado alimentado de monos *Rhesus* adquiridos durante las semanas 5 y 6 del estudio; las barras rellenas corresponden a la semana 5 y las barras sombreadas corresponden a la semana 6.

La figura 42 es una representación gráfica que muestra los perfiles de glucosa de OGGTT5 realizada al final del tratamiento a dosis alta de dos semanas con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43); el círculo relleno, línea continua corresponde al vehículo, el cuadrado en blanco, línea discontinua corresponde a FGF21 y el triángulo relleno, línea continua corresponde a Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43).

La figura 43 es una representación gráfica que muestra los perfiles de insulina de OGGTT5 realizada al final del tratamiento a dosis alta de dos semanas con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43); el círculo relleno, línea continua corresponde al vehículo, el cuadrado en blanco, línea discontinua corresponde a FGF21 y el triángulo relleno, línea continua corresponde a Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43).

La figura 44 es una representación gráfica que muestra el porcentaje de cambio desde el nivel inicial de AUC3-5 de OGTT de glucosa determinado al final de cada período de dosis (dosis baja, media y alta) de los monos *Rhesus*; las barras en blanco corresponden a AUC3 calculado a partir de las mediciones de glucosa durante OGTT3, las barras rellenas corresponden a AUC4 calculado a partir de las mediciones de glucosa durante OGTT4 y las barras sombreadas corresponden a AUC5 calculado a partir de las mediciones de glucosa durante OGTT5.

La figura 45 es un gráfico que muestra los efectos del vehículo, FGF21 y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) sobre el porcentaje de cambio desde el nivel inicial de los niveles de triglicéridos en plasma en estado de ayuno de cada grupo de monos *Rhesus*; las barras sombreadas 1 y 2 corresponden a las semanas 1 y 2 a la dosis baja, las barras en blanco 3 y 4 corresponden a las semanas 3 y 4 a la dosis media, las barras rellenas 5 y 6 corresponden a las semanas 5 y 6 a la dosis alta y las barras punteadas 7, 8 y 9 corresponden a las semanas 7-9 durante el periodo de lavado.

La figura 46 es un gráfico que muestra los niveles de triglicéridos en plasma en estado alimentado de cada grupo de los monos *Rhesus*; tal como se midió durante las semanas quinta y sexta de tratamiento con vehículo, FGF21 o Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) a la dosis alta; las barras sombreadas corresponden a la semana 5 y las barras rellenas corresponden a la semana 6.

La figura 47 es una representación gráfica que muestra los niveles de FGF21 humano en monos individuales medidos de manera previa a la dosis, y a los 5, 12, 19 y 26 días, con muestras adquiridas aproximadamente 21 horas después de cada inyección.

La figura 48 es una representación gráfica que muestra los niveles de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) de monos individuales medidos de manera previa a la dosis, y a los 5, 12, 19 y 26 días, con muestras adquiridas aproximadamente 5 días después de cada inyección.

La figura 49 es una representación gráfica que muestra las concentraciones medias de los niveles FGF21 y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) medidos a partir de las tres OGTT realizadas después de cada una de las dosis baja, media y alta; las barras sombreadas corresponden a OGTT3 a la dosis baja, las barras rellenas corresponden a OGTT4 a la dosis media y las barras en blanco corresponden a OGTT5 a la dosis alta.

La figura 50 es la secuencia de aminoácidos de la proteína de fusión Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E)

(SEQ ID NO:47); los residuos de Fc de IgG1 (SEQ ID NO: 11) están en negrita, el ligador (G4S)3 (SEQ ID NO:31) está en cursiva y las mutaciones puntuales en la secuencia de FGF21 (SEQ ID NO: 39) están en negrita y subrayadas.

La figura 51 es una representación gráfica que muestra la respuesta a la dosis de los compuestos sometidos a prueba en los ensayos de Erk-luciferasa; se sometieron a prueba Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:47), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:57), FGF21 silvestre y una fusión de Fc con FGF21 silvestre.

La figura 52 es una representación gráfica que muestra los resultados de un ensayo de unión de equilibrio en disolución de Biacore de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:47) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) a β-Klotho humano (derecha) y de macaco cangrejero (izquierda).

La figura 53 es un par de representaciones gráficas que muestran la respuesta a la dosis de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:47) en ratones db/db después de una única inyección; la figura 53A muestra los niveles de glucemia en ratones db/db en diversos puntos de tiempo después de la inyección de vehículo o Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E), mientras que la figura 53B muestra el efecto de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) sobre el peso corporal después de una única inyección en ratones db/db.

La figura 54 es un esquema que presenta gráficamente un estudio de frecuencia de dosis de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:47) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) en ratones DIO.

La figura 55 es una representación gráfica que muestra los perfiles de GTT de ratones tratados con vehículo, Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:47) o Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) a diferentes frecuencias de dosificación.

La figura 56 es una representación gráfica que muestra el cambio del peso corporal desde el nivel inicial (día 0) en ratones tratados con vehículo, Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:47) o Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) a diferentes frecuencias de dosificación.

La figura 57 es una representación gráfica que muestra los resultados de un estudio *in vitro* de hidrogeles que comprende el mutante de FGF21, FGF21 (L98R, P171G)) (SEQ ID NO:37) .

La figura 58 es una representación gráfica que muestra el efecto sobre el nivel de glucemia de ratones db/db de 8 semanas de edad a los que se les dosificaron diversas formulaciones de hidrogel.

La figura 59 es una representación gráfica que muestra el efecto sobre el nivel de glucemia de ratones db/db de 8 semanas de edad a los que se les dosificaron diversas formulaciones de hidrogel.

La figura 60 es una representación gráfica que muestra el efecto sobre el nivel de glucemia de ratones db/B6 de 8 semanas de edad a los que se les dosificaron diversas formulaciones de hidrogel; los círculos rellenos representan un ratón al que se le dosificó un control de hidrogel, los cuadrados rellenos representan ratones a los que se les dosificó FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:37) en un hidrogel a 10 mg/kg, los triángulos rellenos representan ratones a los que se les dosificó FGF21 (L98R, P171G) en un hidrogel a 30 mg/kg y los triángulos invertidos representan ratones a los que se les dosificó Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:57) solo.

La figura 61 es una representación gráfica que muestra el porcentaje de cambio en el nivel de glucemia de ratones db/B6 de 8 semanas de edad a los que se les dosificaron diversas formulaciones de hidrogel; los círculos rellenos representan un ratón al que se le dosificó un control de hidrogel, los cuadrados rellenos representan ratones a los que se les dosificó FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 37) en un hidrogel a 10 mg/kg, los triángulos rellenos representan ratones a los que se les dosificó FGF21 (L98R, P171G) en un hidrogel a 30 mg/kg y los triángulos invertidos representan ratones a los que se les dosificó Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:57) solo.

La figura 62 es una representación gráfica que muestra el efecto sobre el peso corporal de ratones db/B6 de 8 semanas de edad a los que se les dosificaron diversas formulaciones de hidrogel; los círculos rellenos representan un ratón al que se le dosificó un control de hidrogel, los cuadrados rellenos representan ratones a los que se les dosificó FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:37) en un hidrogel a 10 mg/kg, los triángulos rellenos representan ratones a los que se les dosificó FGF21 (L98R, P171G) en un hidrogel a 30 mg/kg y los triángulos invertidos representan ratones a los que se les dosificó Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 57) solo.

La figura 63 es una representación gráfica que muestra el porcentaje de cambio en el peso de ratones db/B6 de 8 semanas de edad a los que se les dosificaron diversas formulaciones de hidrogel; los círculos rellenos representan un ratón al que se le dosificó un control de hidrogel, los cuadrados rellenos representan ratones a los que se les dosificó FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:37) en un hidrogel a 10 mg/kg, los triángulos rellenos representan ratones a los que se les dosificó FGF21 (L98R, P171G) en un hidrogel a 30 mg/kg y los triángulos invertidos representan ratones a los que se les dosificó Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 57) solo.

La figura 64 es un diagrama que representa gráficamente el diseño del estudio para un estudio de aumento de la dosis de nueve semanas realizado en macacos cangrejeros con tolerancia alterada a la glucosa (IGT, *impaired glucose tolerance*).

La figura 65 es una representación gráfica que representa los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:47) sobre la ingesta de alimentos de la comida a.m. de los macacos cangrejeros con IGT estudiados.

La figura 66 es una representación gráfica que representa los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:47) sobre la ingesta de fruta de los macacos cangrejeros con IGT estudiados.

La figura 67 es una representación gráfica que representa los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:47) sobre la ingesta de alimentos de la comida p.m. de los macacos cangrejeros con IGT estudiados.

La figura 68 es una representación gráfica que representa los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:47) sobre el peso corporal de los macacos cangrejeros con IGT estudiados.

La figura 69 es una representación gráfica que muestra los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:47) sobre el índice de masa corporal de los macacos cangrejeros con IGT estudiados.

La figura 70 es una representación gráfica que muestra los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:47) sobre el grosor del pliegue cutáneo de los macacos cangrejeros con IGT estudiados.

La figura 71 es una representación gráfica que muestra los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:47) sobre el perímetro abdominal de los macacos cangrejeros con IGT estudiados.

La figura 72 es una representación gráfica que muestra los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, *A180E*) (SEQ ID NO:47) sobre los niveles de glucosa en plasma de los macacos cangrejeros con IGT estudiados.

La figura 73 es una representación gráfica que muestra los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:47) sobre la tolerancia a la glucosa de los macacos cangrejeros con IGT estudiados.

La figura 74 es una representación gráfica que muestra los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:47) sobre los niveles de triglicéridos en plasma de los macacos cangrejeros con IGT estudiados.

La figura 75 es una representación gráfica que muestra los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:47) sobre los niveles de colesterol total en plasma de los macacos cangrejeros con IGT estudiados.

La figura 76 es una representación gráfica que muestra los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:47) sobre los niveles de colesterol HDL en plasma de los macacos cangrejeros con IGT estudiados.

La figura 77 es una serie de perfiles de espectometría de masas MALDI que muestran los cambios observados en Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (panel izquierdo, SEQ ID NO:43) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (panel derecho, SEQ ID NO:57) en diversos puntos a lo largo de un periodo de tiempo de 168 horas.

La figura 78 es una representación gráfica que muestra la abundancia relativa (%) de péptido C-terminal de longitud completa con respecto a los fragmentos de péptido C-terminal totales derivados tanto de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) como de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) tal como se analizó mediante MRM CL/EM/EM después de la digestión con Asp-N.

La figura 79 es una representación gráfica que muestra los resultados de un ensayo ELISA para determinar la concentración en plasma de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) de longitud completa intacto (SEQ ID NO:43) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 57) a lo largo de un periodo de 240 horas tras la inyección intravenosa a ratones.

La figura 80 es una representación gráfica que muestra los resultados de un ensayo de actividad ELK-luciferasa realizado con un control negativo, FGF21 humano (SEQ ID NO:4) y los mutantes de glicosilación de FGF21, FGF21 (Y179N, S181T) (SEQ ID NO: 161), FGF21 Y179N (SEQ ID NO: 163) y FGF21 P124S (SEQ ID NO: 165).

Descripción detallada de la invención

Puede prepararse una proteína FGF21 humana, que tiene propiedades mejoradas tales como un umento de la semivida y/o una disminución de la agregación, usando los métodos dados a conocer en el presente documento y métodos convencionales de biología molecular. Opcionalmente, la semivida puede ampliarse adicionalmente fusionando un anticuerpo, o parte del mismo, con el extremo N-terminal o C-terminal de la secuencia de FGF21 silvestre. También es posible ampliar adicionalmente la semivida o disminuir la agregación de de la proteína FGF21 silvestre introduciendo sustituciones de aminoácidos en la proteína. Tales proteínas modificadas se denominan en el presente documento mutantes, o mutantes de FGF21, y forman realizaciones de la presente invención.

Los métodos de ácido nucleico recombinante usados en el presente documento, incluyendo los ejemplos, son generalmente los expuestos en Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) o Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel *et al*., eds., Green Publishers Inc. y Wiley and Sons 1994).

1. Definiciones generales

El término “molécula de ácido nucleico aislada“ se refiere a una molécula de ácido nucleico proporcionada en el presente documento que (1) se ha separado de al menos aproximadamente el 50 por ciento de las proteínas, los lípidos, hidratos de carbono, u otros materiales con los que se encuentra de manera natural cuando el ácido nucleico total se aísla de las células fuente, (2) no está unida a la totalidad o a una parte de un polinucleótido al que la “molécula de ácido nucleico aislada“ está unida en la naturaleza, (3) está unida operativamente a un polinucleótido al que no se une en la naturaleza, o (4) no se produce en la naturaleza como parte de una secuencia de polinucleótido más grande. Preferiblemente, una molécula de ácido nucleico aislada está sustancialmente libre de cualquier otra molécula de ácido nucleico contaminante u otros contaminantes que se encuentran en su entorno natural que interferiría en su uso en la producción de polipéptidos o su uso terapéutico, diagnóstico, profiláctico o de investigación.

El término “vector“ se usa para referirse a cualquier molécula (por ejemplo, ácido nucleico, plásmido o virus) usada para transferir información de codificación a una célula huésped.

El término “vector de expresión“ se refiere a un vector que es adecuado para la transformación de una célula huésped y contiene secuencias de ácido nucleico que dirigen y/o controlan la expresión de secuencias de ácido nucleico heterólogas insertadas. La expresión incluye, pero no se limita a, procesos tales como transcripción, traducción y corte y empalme de ARN, si están presentes intrones.

El término “unido operativamente“ se usa en el presente documento para referirse a una disposición de secuencias flanqueantes en la que las secuencias flanqueantes así descritas están configuradas o ensambladas de modo que realicen su función habitual. Por tanto, una secuencia flanqueante unida operativamente a una secuencia codificante puede efectuar la replicación, transcripción y/o traducción de la secuencia codificante. Por ejemplo, una secuencia codificante está unida operativamente a un promotor cuando el promotor puede dirigir la transcripción de esa secuencia codificante. No es necesario que una secuencia flanqueante sea contigua a la secuencia codificante, siempre que funcione correctamente. Por tanto, por ejemplo, pueden estar presentes secuencias intermedias no traducidas aunque transcritas entre una secuencia promotora y la secuencia codificante y la secuencia promotora puede considerarse todavía “unida operativamente“ a la secuencia codificante.

El término “célula huésped“ se usa para referirse a una célula que se ha transformado, o que puede transformarse con una secuencia de ácido nucleico, tal como un ácido nucleico proporcionado en el presente documento, y luego expresar un gen seleccionado de interés. El término incluye la progenie de la célula parental, independientemente de si la progenie es de morfología o de composición genética idéntica a la célula parental original, siempre que el gen seleccionado esté presente.

El término “polipéptido aislado“ se refiere a un polipéptido proporcionado en el presente documento que (1) se ha separado de al menos aproximadamente el 50 por ciento de los polinucleótidos, lípidos, hidratos de carbono, u otros materiales con los que se encuentra de manera natural cuando se aísla de la célula fuente, (2) no está unido (mediante interacción covalente o no covalente) a la totalidad o a una parte de un polipéptido al que el “polipéptido aislado“ está unido en la naturaleza, (3) está unido operativamente (mediante interacción covalente o no covalente) a un polipéptido al que no está unido en la naturaleza, o (4) no se produce en la naturaleza. Preferiblemente, el polipéptido aislado está sustancialmente libre de cualquier otro polipéptido contaminante u otros contaminantes que se encuentran en su entorno natural que interferiría en su uso terapéutico, diagnóstico, profiláctico o de investigación.

El término “que se produce de manera natural“ cuando se usa en relación con materiales biológicos tales como moléculas de ácido nucleico, polipéptidos, células huésped, y similares, se refiere a materiales que se encuentran en la naturaleza y no son manipulados por el hombre. De manera similar, “que no se produce de manera natural“ tal como se usa en el presente documento se refiere a un material que no se encuentra en la naturaleza o que se ha sintetizado o modificado estructuralmente por el hombre. Cuando se usa en relación con nucleótidos, el término “que se produce de manera natural“ se refiere a las bases adenina (A), citosina (C), guanina (G), timina (T) y uracilo (U).

Cuando se usa en relación con aminoácidos, el término “que se produce de manera natural“ se refiere a los 20 aminoácidos alanina (A), cisteína (C), ácido aspártico (D), ácido glutámico (E), fenilalanina (F), glicina (G), histidina (H), isoleucina (I), lisina (K), leucina (L), metionina (M), asparagina (N), prolina (P), glutamina (Q), arginina (R), serina (S), treonina (T), valina (V), triptófano (W) y tirosina (Y).

El término “polipéptido de FGF21“ se refiere a un polipéptido silvestre que se produce de manera natural expresado en seres humanos. Para los fines de esta descripción, el término “polipéptido de FGF21“ puede usarse de manera intercambiable para referirse a cualquier polipéptido de FGF21 de longitud completa, por ejemplo, SEQ ID NO:2 y 6, que consisten en 209 residuos de aminoácido y que están codificadas por las secuencias de nucleótidos de SEQ ID NO: 1 y 5, respectivamente; cualquier forma madura del polipéptido, por ejemplo, SEQ ID NO:4 y 8, que consisten en 181 residuos de aminoácido y que están codificadas por las secuencias de nucleótidos de SEQ ID NO: 3 y 7, respectivamente, y en las que se han eliminado los 28 residuos de aminoácido en el extremo amino-terminal del polipéptido de FGF21 de longitud completa (es decir, que constituyen el péptido señal). Los polipéptidos de FGF21 maduros y de longitud completa pueden comprender, pero no es necesario, una metionina amino-terminal, que puede introducirse mediante ingeniería genética o como resultado de un proceso de expresión bacteriana.

Los términos “mutante de polipéptido de FGF21“ y “mutante de FGF21“ pueden usarse de manera intercambiable y se refieren a un polipéptido de FGF21 en el que se ha modificado una secuencia de aminoácidos de FGF21 que se produce de manera natural (por ejemplo, SEQ ID NO:2, 4, 6 u 8). Tales modificaciones incluyen, pero no se limitan a, una o más sustituciones de aminoácidos, incluyendo sustituciones por aminoácidos que no se producen de manera natural y análogos de aminoácido que no se producen de manera natural, y truncamientos. Por tanto, los mutantes de polipéptido de FGF21 incluyen, pero no se limitan a, mutantes de FGF21 dirigidos al sitio, polipéptidos de FGF21 truncados, mutantes de FGF21 resistentes a la proteólisis, mutantes de FGF21 de reducción de la agregación, mutantes de combinación de FGF21 y proteínas de fusión de FGF21, tal como se describe en el presente documento. Con el fin de identificar las sustituciones de aminoácidos y los truncamientos específicos de los mutantes de FGF21 de la presente invención, la numeración de los residuos de aminoácido truncados o mutados corresponde a la del polipéptido de FGF21 de 181 residuos maduro. Los mutantes de FGF21 pueden comprender, pero no es necesario, una metionina amino-terminal, que puede introducirse mediante ingeniería genética o como resultado de un proceso de expresión bacteriana. En otras realizaciones de la presente invención, un mutante de polipéptido de FGF21 comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos aproximadamente el 85 por ciento a la secuencia de aminoácidos de FGF21 mutante, pero en la que no se han modificado adicionalmente residuos específicos que confieren una propiedad deseable al mutante de polipéptido de FGF21, por ejemplo, resistencia a la proteólisis, aumento de la semivida o las propiedades de reducción de la agregación y combinaciones de las mismas. Dicho de otro modo, con la excepción de los residuos en la secuencia del mutante de FGF21 que se han modificado con el fin de conferir resistencia a la proteólisis, reducción de la agregación, u otras propiedades, puede modificarse aproximadamente el 15 por ciento de todos los demás residuos de aminoácido en la secuencia del mutante de FGF21. Por ejemplo, en el mutante de FGF21 Q173E, podrían modificarse hasta el 15 por ciento de todos los residuos de aminoácido distintos del residuo de ácido glutámico, que se sustituyó por glutamina en la posición 173. En todavía otras realizaciones, un mutante de polipéptido de FGF21 comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos aproximadamente el 90 por ciento, o aproximadamente el 95, el 96, el 97, el 98 o el 99 por ciento a la secuencia de aminoácidos de FGF21 mutante, pero en el que no se han modificado adicionalmente los residuos específicos que confieren las propiedades de reducción de la agregación o resistencia a la proteólisis al mutante de polipéptido de FGF21. Tales mutantes de polipéptido de FGF21 presentan al menos una actividad del polipéptido de FGF21 silvestre.

La presente invención también engloba una molécula de ácido nucleico que codifica para un mutante de polipéptido de FGF21 que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos aproximadamente el 85 por ciento a la secuencia de aminoácidos de FGF21 mutante pero en el que no se han modificado adicionalmente los residuos específicos que confieren una propiedad deseable al mutante de polipéptido de FGF21, por ejemplo, resistencia a la proteólisis, aumento de la semivida o las propiedades de reducción de la agregación y combinaciones de las mismas.

Dicho de otro modo, con la excepción de residuos en la secuencia del mutante de FGF21 que se han modificado con el fin de conferir resistencia a la proteólisis, reducción de la agregación, u otras propiedades, puede modificarse aproximadamente el 15 por ciento de todos los demás residuos de aminoácido en la secuencia del mutante de FGF21. Por ejemplo, en el mutante de FGF21 Q173E, podría modificarse hasta el 15 por ciento de todos los residuos de aminoácido distintos del residuo de ácido glutámico, que se sustituyó por glutamina en la posición 173. La presente invención engloba además una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que es idéntica en al menos aproximadamente el 90 por ciento, o aproximadamente el 95, el 96, el 97, el 98 o el 99 por ciento a la secuencia de nucleótidos que codifica para un mutante de FGF21, pero en la que no se han modificado adicionalmente los nucleótidos que codifican para residuos de aminoácido que confieren las propiedades de reducción de la agregación o resistencia a la proteólisis al mutante de polipéptido de FGF21 codificado. Tales moléculas de ácido nucleico codifican para polipéptidos mutantes de FGF21 que presentan al menos una actividad del polipéptido de FGF21 silvestre.

El término “mutante de polipéptido de FGF21 biológicamente activo“ se refiere a cualquier mutante de polipéptido de FGF21 descrito en el presente documento que presente una actividad del polipéptido de FGF21 silvestre, tal como la

capacidad para disminuir los niveles de glucemia, insulina, triglicéridos o colesterol; reducir el peso corporal; o mejorar la tolerancia a la glucosa, el gasto de energía o la sensibilidad a la insulina, independientemente del tipo o número de modificaciones que se hayan introducido en el mutante de polipéptido de FGF21. Los mutantes de polipéptido de FGF21 que presentan un nivel algo disminuido de actividad de FGF21 con relación al polipéptido de FGF21 silvestre pueden considerarse no obstante que son mutantes de polipéptido de FGF21 biológicamente activos.

Los términos “cantidad eficaz“ y “cantidad terapéuticamente eficaz“ se refieren cada uno a la cantidad de un mutante de polipéptido de FGF21 usada para soportar un nivel observable de una o más actividades biológicas del polipéptido de FGF21 silvestre, tales como la capacidad para disminuir los niveles de glucemia, insulina, triglicéridos o colesterol; reducir el peso corporal; o mejorar la tolerancia a la glucosa, el gasto de energía o la sensibilidad a la insulina.

El término “portador farmacéuticamente aceptable“ o “portador fisiológicamente aceptable“ tal como se usa en el presente documento se refiere a uno o más agentes de formulación adecuados para llevar a cabo o mejorar la administración de un mutante de polipéptido de FGF21 en el cuerpo de un sujeto humano o no humano. El término incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y de retardo de la absorción, y similares que sean fisiológicamente compatibles. Los ejemplos de portadores farmacéuticamente aceptables incluyen uno o más de agua, solución salina, solución salina tamponada con fosfato, dextrosa, glicerol, etanol y similares, así como combinaciones de los mismos. En algunos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol o cloruro de sodio en una composición farmacéutica. Las sustancias farmacéuticamente aceptables tales como humectantes o cantidades minoritarias de sustancias auxiliares tales como agentes humectantes o emulsionantes, conservantes o tampones, que potencian la vida útil o la eficacia del mutante de polipéptido de FGF21 también pueden actuar como, o formar un componente de, un portador.

El término “antígeno“ se refiere a una molécula o a una parte de una molécula que puede unirse por un anticuerpo, y adicionalmente que puede usarse en un animal para producir anticuerpos que pueden unirse a un epítopo de ese antígeno. Un antígeno puede tener uno o más epítopos.

El término “Fc nativo“ se refiere a una molécula o secuencia que comprende la secuencia de un fragmento que no se une a antígenos que resulta de la digestión de un anticuerpo completo o producido por otros medios, ya sea en forma monomérica o multimérica, y puede contener la región bisagra. La fuente de inmunoglobulina original de Fc nativo es preferiblemente, pero no de manera necesaria, de origen humano y puede ser cualquiera de las inmunoglobulinas, aunque se prefieren IgG1 y IgG2. También puede emplearse IgG4. Las moléculas de Fc nativo se componen de polipéptidos monoméricos que pueden unirse para dar formas diméricas o multiméricas mediante asociación covalente (es decir, enlaces disulfuro) y no covalente. El número de enlaces disulfuro intermoleculares entre subunidades monoméricas de moléculas de Fc nativo oscila entre 1 y 4 dependiendo de la clase (por ejemplo, IgG, IgA e IgE) o subclase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgGA2). Un ejemplo de un Fc nativo es un dímero unido con enlaces disulfuro que resulta de la digestión con papaína de una IgG (véase Ellison *et al.*, 1982, Nucleic Acids Res. 10: 4071-9). El término “Fc nativo“ tal como se usa en el presente documento es genérico para las formas monomérica, dimérica y multimérica. Un ejemplo de una secuencia de Fc de polipéptido se presenta en SEQ ID NO: 11, que se deriva de una molécula de IgG1 humana. Un Fc nativo puede comprender, pero no es necesario, una metionina amino-terminal, que puede introducirse mediante ingeniería genética o como resultado de un proceso de expresión bacteriana; tales moléculas de Fc todavía se consideran que son moléculas de “Fc nativo“.

El término “variante de Fc“ se refiere a una molécula o secuencia que se modifica a partir de un Fc nativo pero todavía comprende un sitio de unión para el receptor salvaje, FcRn (receptor de Fc neonatal). Las publicaciones internacionales n.º. WO 97/34631 y WO 96/32478 describen variantes de Fc a modo de ejemplo, así como la interacción con el receptor salvaje. Por tanto, el término “variante de Fc“ puede comprender una molécula o secuencia que se humaniza a partir de un Fc nativo no humano. Además, un Fc nativo comprende regiones que pueden eliminarse porque proporcionan características estructurales o actividad biológica que no se requieren para las moléculas de fusión de los mutantes de FGF21 de la presente invención. Por tanto, el término “variante de Fc“ comprende una molécula o secuencia que carece de uno o más residuos o sitios de Fc nativo, o en la que se han modificado uno o más residuos o sitios de Fc, que afectan a o participan en: (1) la formación de enlaces disulfuro, (2) la incompatibilidad con una célula huésped seleccionada, (3) la heterogeneidad N-terminal con la expresión en una célula huésped seleccionada, (4) la glicosilación, (5) la interacción con el complemento, (6) la unión a un receptor de Fc distinto de un receptor salvaje, o (7) la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC). Las variantes de Fc se describen más detalladamente a continuación en el presente documento. Una variante de Fc puede comprender, pero no es necesario, una metionina amino-terminal, que puede introducirse mediante ingeniería genética o como resultado de un proceso de expresión bacteriana; tales moléculas de Fc todavía se consideran que son “variantes de Fc.“

El término “dominio de Fc“ engloba Fc nativo y secuencias y variantes de Fc tal como se definieron anteriormente. Como con las variantes de Fc y las moléculas de Fc nativo, el término “dominio de Fc“ incluye moléculas en forma monomérica o multimérica, ya se digieran a partir de un anticuerpo completo o se produzcan mediante otros medios. En algunas realizaciones de la presente invención, un dominio de Fc puede fusionarse con FGF21 o con un mutante

de FGF21 (incluyendo una forma truncada de FGF21 o un mutante de FGF21) a través de, por ejemplo, un enlace covalente entre el dominio de Fc y la secuencia de FGF21. Tales proteínas de fusión pueden formar multímeros mediante la asociación de los dominios de Fc y tanto estas proteínas de fusión como sus multímeros son un aspecto de la presente invención. Un dominio de Fc puede comprender, pero no es necesario, una metionina amino-terminal, que puede introducirse mediante ingeniería genética o como resultado de un proceso de expresión bacteriana.

2. Mutantes de FGF21

El término “mutante de FGF21“ se refiere a un polipéptido mutante de FGF21 que tiene una secuencia de aminoácidos que difiere de la secuencia de aminoácidos de una secuencia de polipéptido de FGF21 que se produce de manera natural, por ejemplo, SEQ ID NO:2, 4, 6 u 8, en uno o más aminoácidos. Los mutantes de FGF21 pueden generarse introduciendo una o más sustituciones de aminoácidos, ya sean conservativas o no conservativas y usando aminoácidos que se producen de manera natural o no natural, en posiciones particulares del polipéptido de FGF21.

Una “sustitución de aminoácido conservativa“ puede implicar una sustitución de un residuo de aminoácido nativo (es decir, un residuo que se encuentra en una posición dada de la secuencia de polipéptido de FGF21 silvestre) con un residuo no nativo (es decir, un residuo que no se encuentra en una posición dada de la secuencia de polipéptido de FGF21 silvestre) de tal manera que hay un pequeño o ningún efecto sobre la polaridad o carga del residuo de aminoácido en esa posición. Las sustituciones de aminoácidos conservativas también engloban residuos de aminoácidos que se producen de manera no natural que se incorporan normalmente mediante síntesis química de péptidos más que mediante síntesis en sistemas biológicos. Estos incluyen peptidomiméticos, y otras formas revertidas o invertidas de restos de aminoácido.

Los residuos que se producen de manera natural pueden dividirse en clases basándose en las propiedades de la cadena lateral comunes:

(1) hidrófobos: norleucina, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

(2) hidrófilos neutros: Cys, Ser, Thr;

(3) ácidos: Asp, Glu;

(4) básicos: Asn, Gln, His, Lys, Arg;

(5) residuos que influyen en la orientación de cadena: Gly, Pro; y

(6) aromáticos: Trp, Tyr, Phe.

Las sustituciones conservativas pueden implicar el intercambio de un miembro de una de estas clases por otro miembro de la misma clase. Las sustituciones no conservativas pueden implicar el intercambio de un miembro de una de estas clases por un miembro de otra clase.

Los expertos en la técnica pueden determinar sustituciones de aminoácidos deseadas (ya sean conservativas o no conservativas) en el momento en el que se desean tales sustituciones. Se expone una lista a modo de ejemplo (pero no limitativa) de sustituciones de aminoácidos en la tabla 1.

Tabla 1

Sustituciones de aminoácidos

Residuo original	Sustituciones a modo de ejemplo
Ala	Val, Leu, Ile
Arg	Lys, Gln, Asn
Asn	Gln
Asp	Glu
Cys	Ser, Ala
Gln	Asn
Glu	Asp
Gly	Pro, Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe
Leu	Ile, Val, Met, Ala, Phe
Lys	Arg, Gln, Asn
Met	Leu, Phe, Ile
Phe	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr
Pro	Ala
Ser	Thr, Ala, Cys

Thr	Ser
Trp	Tyr, Phe
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser
Val	Ile, Met, Leu, Phe, Ala

3. Polipéptidos de FGF21 truncados

Una realización de la presente invención se refiere a formas truncadas de un polipéptido de FGF21 maduro o mutante de FGF21. Esta realización de la presente invención surge a partir de un esfuerzo por identificar polipéptidos de FGF21 truncados que pueden proporcionar una actividad que es similar, y en algunos casos superior, a formas no truncadas del polipéptido de FGF21 maduro.

Tal como se usa en el presente documento, el término “polipéptido de FGF21 truncado“ se refiere a un polipéptido de FGF21 en el que se han eliminado residuos de aminoácido del extremo amino-terminal (o N-terminal) del polipéptido de FGF21, se han eliminado residuos de aminoácido del extremo carboxi-terminal (o C-terminal) del polipéptido de FGF21, o se han eliminado residuos de aminoácido de ambos extremos amino-terminal y carboxi-terminal del polipéptido de FGF21. Los diversos truncamientos dados a conocer en el presente documento se prepararon tal como se describe en el presente documento en los ejemplos 3 y 6.

La actividad de polipéptidos de FGF21 truncados de manera N-terminal y polipéptidos de FGF21 truncados de manera C-terminal puede someterse a ensayo usando un ensayo de ELK-luciferasa *in vitro* tal como se describe en el ejemplo 4. Pueden encontrarse detalles específicos de los ensayos *in vitro* que pueden usarse para examinar la actividad de polipéptidos de FGF21 truncados en el ejemplo 4.

La actividad de los polipéptidos de FGF21 truncados de la presente invención también puede someterse a ensayo en un ensayo *in vivo*, tal como en ratones db/db o ratones ob/ob tal como se muestra en los ejemplos 5 y 7. Generalmente, para evaluar la actividad *in vivo* de un polipéptido de FGF21 truncado, el polipéptido de FGF21 truncado puede administrarse a un animal de prueba por vía intraperitoneal. Después de un periodo de incubación deseado (por ejemplo, una hora o más), puede extraerse una muestra de sangre, y pueden medirse los niveles de glucemia. Pueden encontrarse detalles específicos de los ensayos *in vitro* que pueden usarse para examinar la actividad de polipéptidos de FGF21 truncados en los ejemplos 5 y 7.

a. Truncamientos N-terminales

En algunas realizaciones de la presente invención, los truncamientos N-terminales comprenden 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 residuos de aminoácido del extremo N-terminal del polipéptido de FGF21 maduro o mutante de FGF21. Tal como se demuestra, por ejemplo, en el ejemplo 5 y la figura 3, los polipéptidos de FGF21 truncados que tienen truncamientos N-terminales de menos de 9 residuos de aminoácido conservan la capacidad del polipéptido de FGF21 maduro para disminuir la glucemia en un individuo. Por consiguiente, en realizaciones particulares, la presente invención engloba formas truncadas del polipéptido de FGF21 maduro o mutantes de polipéptido de FGF21 que tienen truncamientos N-terminales de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 residuos de aminoácido.

b. Truncamientos C-terminales

En algunas realizaciones de la presente invención, los truncamientos C-terminales comprenden 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ó 12 residuos de aminoácido del extremo C-terminal del polipéptido de FGF21 maduro. Tal como se demuestra, por ejemplo, en el ejemplo 4 y la figura 1B, los polipéptidos de FGF21 truncados que tienen truncamientos C-terminales de menos de 13 residuos de aminoácido mostraron una eficacia de al menos el 50% de la eficacia de FGF21 silvestre en un ensayo de ELK-luciferasa *in vitro*, indicando que estos mutantes de FGF21 conservan la capacidad del polipéptido de FGF21 maduro para disminuir la glucemia en un individuo. Por consiguiente, en realizaciones particulares, la presente invención engloba formas truncadas del polipéptido de FGF21 maduro o mutantes de polipéptido de FGF21 que tienen truncamientos C-terminales de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ó 12 residuos de aminoácido.

c. Truncamientos N-terminales y C-terminales

En algunas realizaciones de la presente invención, los polipéptidos de FGF21 truncados pueden tener una combinación de truncamientos N-terminales y C-terminales. Los polipéptidos de FGF21 truncados que tienen una combinación de truncamientos N-terminales y C-terminales comparten la actividad de los polipéptidos de FGF21 truncados correspondientes que tienen o bien truncamientos N-terminales o bien C-terminales solo. Dicho de otro modo, los polipéptidos de FGF21 truncados que tienen tanto truncamientos N-terminales de menos de 9 residuos de aminoácido como truncamientos C-terminales de menos de 13 residuos de aminoácido presentan una actividad biológica, por ejemplo, actividad hipoglucemiante, similar o mayor que la los polipéptidos de FGF21 truncados que tienen truncamientos N-terminales de menos de 9 residuos de aminoácido o polipéptidos de FGF21 truncados que tienen truncamientos C-terminales de menos de 13 residuos de aminoácido. Por consiguiente, en realizaciones particulares, la presente invención engloba formas truncadas del polipéptido de FGF21 maduro o mutantes de polipéptido de FGF21 que tienen tantos truncamientos N-terminales de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 residuos de aminoácido como truncamientos C-terminales de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ó 12 residuos de aminoácido.

Como con todos los mutantes de FGF21 de la presente invención, los polipéptidos de FGF21 truncados y mutantes de FGF21 pueden comprender opcionalmente un residuo de metionina amino-terminal, que puede introducirse mediante mutación dirigida o como resultado de un proceso de expresión bacteriana.

Los polipéptidos de FGF21 truncados de la presente invención pueden prepararse tal como se describe en los ejemplos 3 y 6. Los expertos habituales en la técnica, familiarizados con las técnicas de biología molecular convencionales, pueden emplear ese conocimiento, junto con la presente descripción, para producir y usar los polipéptidos de FGF21 truncados de la presente invención. Pueden usarse técnicas convencionales para ADN recombinante, síntesis de oligonucleótidos, cultivo tisular y transformación (por ejemplo, electroporación, lipofección). Véase, por ejemplo, Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, citado anteriormente. Las reacciones enzimáticas y las técnicas de purificación pueden realizarse según las especificaciones del fabricante, tal como se lleva a cabo comúnmente en la técnica, o tal como se describe en el presente documento. A menos que se proporcionen definiciones específicas, las nomenclaturas utilizadas en relación con, y los procedimientos y las técnicas de laboratorio de, química analítica, química orgánica de síntesis y química medicinal y farmacéutica descritos en el presente documento son los que se conocen bien y se usan comúnmente en la técnica. Pueden usarse técnicas convencionales para síntesis químicas; análisis químicos; administración, formulación y preparación farmacéutica; y tratamiento de pacientes.

Los polipéptidos de FGF21 truncados de la presente invención también pueden fusionarse con otra entidad, que puede transmitir propiedades adicionales al polipéptido de FGF21 truncado. En una realización de la presente invención, un polipéptido de FGF21 truncado puede fusionarse con una secuencia de Fc. Tal fusión puede llevarse a cabo usando métodos de biología molecular conocidos y/o la orientación proporcionada en el presente documento. Los beneficios de tales polipéptidos de fusión, así como los métodos para producir tales polipéptidos de fusión, se tratan en más detalle en el presente documento.

4. Mutantes de FGF21 resistentes a proteólisis

Tal como se describe en el ejemplo 8, se encontró que el FGF21 maduro experimenta degradación *in vivo*, que se determinó en última instancia que surge del ataque proteolítico. Se encontró que la degradación *in vivo* de FGF21 maduro conduce a una semivida eficaz más corta, lo que puede afectar adversamente al potencial terapéutico de una molécula. Por consiguiente, se realizó un estudio dirigido para identificar mutantes de FGF21 que muestran una resistencia a la proteólisis. Como resultado de esta investigación, los sitios en el polipéptido de FGF21 maduro que se determinaron que eran particularmente susceptibles a la proteólisis incluyen el enlace peptídico entre los residuos de aminoácido en las posiciones 4-5, 20-21, 151-152, 171-172 y 178-181.

Se realizó un estudio amplio pero centrado y dirigido para identificar sustituciones particulares que eliminan el efecto proteolítico observado mientras que no afectan a la actividad de la proteína en un grado inaceptable. Las tablas 8 y 11 destacan algunos de los mutantes que se prepararon y se sometieron a prueba. Tal como se describe, por ejemplo, en los ejemplos 13 y 14, no todos los mutantes de FGF21 muestran un perfil ideal; algunos mutantes confirieron resistencia a la proteólisis pero a costa de verse comprometida la actividad de FGF21. Otras mutaciones conservaron la actividad de FGF21 pero no confirieron resistencia a la proteólisis. Varios mutantes, incluyendo por ejemplo, FGF21 P171G, conservaron un nivel de actividad similar al de FGF21 silvestre mientras que también mostraron resistencia a la degradación proteolítica.

Un criterio de selección para identificar mutantes de FGF21 resistentes a la proteólisis deseables fue que la actividad del mutante de FGF21 fuese esencialmente la misma, o mayor que, la actividad de FGF21 silvestre. Por tanto, otra realización de la presente invención se refiere a mutantes de FGF21 que son resistentes a la proteólisis y todavía conservan una actividad que es esencialmente la misma, o mayor que, la de FGF21 silvestre. Aunque menos deseable en algunos casos, los mutantes de FGF21 que son resistentes a la proteólisis pero muestran una actividad disminuida en cierta medida forman otra realización de la presente invención. En algunos casos, puede ser deseable mantener un grado de proteólisis, y por consiguiente, los mutantes de FGF21 que permiten que se produzca cierto grado de proteólisis también forman otra realización de la presente invención.

Como con todos los mutantes de FGF21 proporcionados en el presente documento, los mutantes de FGF21 resistentes a la proteólisis de la presente invención pueden prepararse tal como se describe en el presente documento. Los expertos habituales en la técnica, por ejemplo, aquellos familiarizados con técnicas de biología molecular convencionales, pueden emplear ese conocimiento, junto con la presente descripción, para producir y usar los mutantes de FGF21 resistentes a la proteólisis dados a conocer en el presente documento. Pueden usarse técnicas convencionales para ADN recombinante, síntesis de oligonucleótidos, cultivo tisular y transformación (por ejemplo, electroporación, lipofección). Véase, por ejemplo, Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, citado anteriormente. Las reacciones enzimáticas y las técnicas de purificación pueden realizarse según las especificaciones del fabricante, tal como se lleva a cabo comúnmente en la técnica, o tal como se describe en el presente documento. A menos que se proporcionen definiciones específicas, las nomenclaturas utilizadas en relación con, y los procedimientos y las técnicas de laboratorio de, química analítica, química orgánica de síntesis y química medicinal y farmacéutica descritos en el presente documento son los que se conocen bien y se usan comúnmente en la técnica. Pueden usarse técnicas convencionales para síntesis químicas; análisis químicos; administración, formulación y preparación farmacéutica; y tratamiento de pacientes.

Los mutantes de FGF21 resistentes a proteólisis de la presente invención puede fusionarse con otra entidad, que puede transmitir propiedades adicionales al mutante de FGF21 resistente a la proteólisis. En una realización de la presente invención, un mutante de FGF21 resistente a la proteólisis puede fusionarse con una secuencia de Fc de IgG, por ejemplo, SEQ ID NO: 11. Tal fusión puede llevarse a cabo usando métodos de biología molecular conocidos y/o la orientación proporcionada en el presente documento. Los beneficios de tales polipéptidos de fusión, así como métodos para producir tales polipéptidos de fusión, se conocen y se tratan en más detalle en el presente documento.

5. Mutantes de FGF21 de reducción de la agregación

Tal como se describe en el ejemplo 15, una propiedad del polipéptido de FGF21 silvestre es su propensión a agregarse. A concentraciones por encima de aproximadamente 5 mg/ml, la tasa de agregación es alta a temperatura ambiente. Tal como se muestra y describe en el presente documento, la tasa de agregación para el polipéptido de FGF21 silvestre depende tanto de la concentración como de la temperatura.

La agregación puede demostrar ser un reto cuando se trabaja con FGF21 silvestre a estas concentraciones, tal como en el contexto de una formulación terapéutica. Por consiguiente, se realizó un estudio dirigido para identificar mutantes de FGF21 que muestran agregación de FGF21 reducida. Luego se sometieron a prueba los mutantes de FGF21 resultantes para determinar la propensión a agregarse a diversas concentraciones.

Se realizó un estudio amplio pero centrado y dirigido para identificar sustituciones particulares que eliminan o reducen el efecto de agregación observado de FGF21 silvestre mientras que no afectan a la actividad de la proteína en un grado inaceptable. El enfoque para identificar mutantes de reducción de la agregación adecuados se describe en el ejemplo 15. La tabla 16 destaca alguno de los mutantes que se prepararon y se sometieron a prueba. Tal como se describe, por ejemplo, en el ejemplo 17, no todos los mutantes de FGF21 muestran un perfil ideal. Algunos mutantes, tales como FGF21 L58E tenían actividad de FGF21 comprometida y no se estudiaron adicionalmente. Otras mutaciones, tales como FGF21 A134E, conservaban la actividad de FGF21 pero no conferían propiedades de agregación reducida. Varios mutantes, tales como FGF21 L98R, conservaban la actividad de FGF21 y también mostraban agregación reducida. Un mutante, FGF21 A45K, presentó sorprendentemente un aumento de la actividad de FGF21 mientras que también presentó propiedades de agregación reducida.

Un criterio de selección para identificar mutantes de FGF21 de reducción de la agregación deseables fue que la actividad del mutante de FGF21 fuese esencialmente similar a, o mayor que, la actividad de FGF21 silvestre. Por tanto, otra realización de la presente invención se refiere a mutantes de FGF21 que tienen propiedades de agregación reducida mientras que todavía conservan una actividad de FGF21 que es similar a, o mayor que, la de FGF21 silvestre. Aunque menos deseable en algunos casos, los mutantes de FGF21 que tienen propiedades de agregación reducida pero que muestran una actividad de FGF21 disminuida en cierta medida forman otra realización de la presente invención. En algunos casos puede ser deseable mantener un grado de agregación, y por consiguiente, los mutantes de FGF21 que permiten que se produzca cierto grado de agregación también forman otra realización de la presente invención.

Como con todos los mutantes de FGF21 proporcionados en el presente documento, los mutantes de FGF21 de reducción de la agregación proporcionados en el presente documento pueden prepararse tal como se describe en el presente documento. Los expertos habituales en la técnica, familiarizados con técnicas de biología molecular convencionales, pueden emplear ese conocimiento, junto con la presente descripción, para producir y usar los mutantes de FGF21 de reducción de la agregación de la presente invención. Pueden usarse técnicas convencionales para ADN recombinante, síntesis de oligonucleótidos, cultivo tisular y transformación (por ejemplo, electroporación, lipofección). Véase, por ejemplo, Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, citado anteriormente. Las reacciones enzimáticas y técnicas de purificación pueden realizarse según las especificaciones del fabricante, tal como se lleva a cabo comúnmente en la técnica, o tal como se describe en el presente documento. A menos que se proporcionen definiciones específicas, las nomenclaturas utilizadas en relación con, y los procedimientos y las técnicas de laboratorio de, química analítica, química orgánica de síntesis y química medicinal y farmacéutica descritos en el presente documento son los que se conocen bien y se usan comúnmente en la técnica. Pueden usarse técnicas convencionales para síntesis químicas; análisis químicos; administración, formulación y preparación farmacéutica; y tratamiento de pacientes.

Los mutantes de FGF21 de reducción de la agregación de la presente invención pueden fusionarse con otra entidad, que puede transmitir propiedades adicionales al mutante de FGF21 de reducción de la agregación. En una realización de la presente invención, un mutante de FGF21 de reducción de la agregación puede fusionarse con una secuencia de Fc de IgG, por ejemplo, SEQ ID NO: 11. Tal fusión puede llevarse a cabo usando métodos de biología molecular conocidos y/o la orientación proporcionada en el presente documento. Los beneficios de tales polipéptidos de fusión, así como métodos para producir tales polipéptidos de fusión, se tratan en más detalle en el presente documento.

6. Mutantes de combinación de FGF21

Tal como se describe en el presente documento, la secuencia de FGF21 silvestre presenta varias propiedades que

pueden plantear retos importantes cuando se usa FGF21 como molécula terapéutica. Entre estos retos están la susceptibilidad a la degradación de la proteína y su propensión a la agregación a alta concentración. Después de un esfuerzo exhaustivo para identificar polipéptidos de FGF21 que superen cada uno de estos retos, se realizó un estudio dirigido para determinar si las sustituciones de aminoácidos que confieren resistencia a la proteólisis y las que confieren propiedades de reducción de la agregación podrían combinarse de modo aditivo o sinérgico en una única secuencia de polipéptido mientras que mantienen niveles de actividad que son iguales a o mayores que la actividad de FGF21 silvestre. Esto representó un reto importante, ya que se conoce en la técnica que la introducción de múltiples mutaciones en un polipéptido dado algunas veces puede afectar adversamente a la expresión, actividad, y la consiguiente elaboración de la proteína.

Sorprendentemente, tal como se demuestra, por ejemplo, en los ejemplos 19 y 20, se encontró que las propiedades deseables de varios mutantes de FGF21 podrían combinarse de hecho de modo aditivo o sinérgico para generar un mutante de FGF21 que tiene propiedades farmacéuticas potenciadas. Los mutantes de FGF21 que son resistentes a la proteólisis, tienen un tasa de agregación reducida, y que todavía conservan una actividad que es la misma, o mayor, que la de FGF21 silvestre, se dan a conocer en el presente documento.

Un criterio de selección para identificar mutantes de combinación de FGF21 deseables fue que la actividad del mutante de FGF21 fuese similar a, o mayor que, la actividad de FGF21 silvestre. Por tanto, otra realización de la presente invención se refiere a mutantes de FGF21 que son resistentes a la proteólisis y tienen propiedades de agregación reducida mientras que todavía conservan una actividad de FGF21 que es similar a, o mayor que, la de FGF21 silvestre. Aunque menos deseable en algunos casos, los mutantes de FGF21 que son resistentes a proteólisis y tienen propiedades de agregación reducida pero muestran una actividad de FGF21 disminuida en cierta medida forman otra realización de la presente invención. En algunos casos puede ser deseable mantener un grado de proteólisis y/o agregación, y por consiguiente, los mutantes de FGF21 que permiten cierto grado de proteólisis y/o agregación también forman otra realización de la presente invención.

Como con todos los mutantes de FGF21 de la presente invención, los mutantes de combinación de FGF21 de la presente invención pueden prepararse tal como se describe en el presente documento. Los expertos habituales en la técnica, familiarizados con técnicas de biología molecular convencionales, pueden emplear ese conocimiento, junto con la presente descripción, para producir y usar los mutantes de combinación de FGF21 de la presente invención. Pueden usarse técnicas convencionales para ADN recombinante, síntesis de oligonucleótidos, cultivo tisular y transformación (por ejemplo, electroporación, lipofección). Véase, por ejemplo, Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, citado anteriormente. Las reacciones enzimáticas y técnicas de purificación pueden realizarse según las especificaciones del fabricante, tal como se lleva a cabo comúnmente en la técnica, o tal como se describe en el presente documento. A menos que se proporcionen definiciones específicas, las nomenclaturas utilizadas en relación con, y los procedimientos y las técnicas de laboratorio de, química analítica, química orgánica de síntesis y química medicinal y farmacéutica descritos en el presente documento son los que se conocen bien y se usan comúnmente en la técnica. Pueden usarse técnicas convencionales para síntesis químicas; análisis químicos; administración, formulación y preparación farmacéutica; y tratamiento de pacientes.

Los mutantes de combinación de FGF21 de la presente invención pueden fusionarse con otra entidad, que puede transmitir propiedades adicionales al mutante de combinación de FGF21. En una realización de la presente invención, un mutante de combinación de FGF21 puede fusionarse con una secuencia de Fc de IgG, por ejemplo, SEQ ID NO: 11. Tal fusión puede llevarse a cabo usando métodos de biología molecular conocidos y/o la orientación proporcionada en el presente documento. Los beneficios de tales polipéptidos de fusión, así como métodos para producir tales polipéptidos de fusión, se tratan en más detalle en el presente documento.

7. Proteínas de fusión de FGF21

Tal como se usa en el presente documento, el término “polipéptido de fusión de FGF21“ o “proteína de fusión de FGF21“ se refiere a una fusión de uno o más residuos de aminoácido (tales como una proteína o péptido heterólogos) en el extremo N-terminal o el extremo C-terminal de cualquier mutante de polipéptido de FGF21 descrito en el presente documento.

Los péptidos y polipéptidos heterólogos incluyen, pero no se limitan a, un epítopo para permitir la detección y/o el aislamiento de un mutante de polipéptido de FGF21; una proteína receptora transmembrana o una parte de la misma, tal como un dominio extracelular o un dominio intracelular y transmembrana; un ligando o una parte del mismo que se une a una proteína receptora transmembrana; una enzima o parte de la misma que es catalíticamente activa; un polipéptido o péptido que promueve la oligomerización, tal como un dominio de cremallera de leucina; un polipéptido o péptido que aumenta la estabilidad, tal como una región constante de inmunoglobulina (por ejemplo, un dominio de Fc); una secuencia de ampliación de la semivida que comprende una combinación de dos o más aminoácidos (por ejemplo, 2, 5, 10, 15, 20, 25, etc.) cargados y/o no cargados que se producen de manera natural o que se producen de manera no natural (por ejemplo, serina, glicina, ácido glutámico o aspártico) diseñados para formar un componente de fusión predominantemente hidrófobo o predominantemente hidrófilo para un mutante de FGF21; un anticuerpo funcional o no funcional, o una cadena ligera o pesada del mismo; y un polipéptido que tiene una actividad, tal como una actividad terapéutica, diferente de los mutantes de polipéptido de FGF21 de la presente invención. También están englobados por la presente invención los mutantes de FGF21 fusionados con albúmina

sérica humana (HSA).

Las proteínas de fusión de FGF21 pueden producirse fusionando secuencias heterólogas o bien en el extremo N-terminal o bien en el extremo C-terminal de un mutante de polipéptido de FGF21. Tal como se describe en el presente documento, una secuencia heteróloga puede ser una secuencia de aminoácidos o un polímero que no contiene aminoácidos. Las secuencias heterólogas pueden fusionarse o bien directamente con el mutante de polipéptido de FGF21 o bien a través de una molécula de ligador o adaptador. Una molécula de ligador o adaptador puede ser uno o más residuos de aminoácido (o meros), por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ó 9 residuos (o meros), preferiblemente desde 10 hasta 50 residuos de aminoácido (o meros), por ejemplo, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45 ó 50 residuos (o meros), y más preferiblemente desde 15 hasta 35 residuos de aminoácido (o meros). Una molécula de ligador o adaptador también puede diseñarse con un sitio de escisión para una endonucleasa de restricción de ADN o para una proteasa para permitir la separación de los restos fusionados.

a. Fusiones de Fc

En una realización de la presente invención, un mutante de polipéptido de FGF21 se fusiona con un dominio de Fc, por ejemplo, uno o más dominios de una región Fc de una IgG humana. Los anticuerpos comprenden dos partes funcionalmente independientes, un dominio variable conocido como “Fab”, que se une a un antígeno, y un dominio constante conocido como “Fc“ que participa en funciones efectoras tales como activación del complemento y ataque por células fagocíticas. Un Fc tiene una larga semivida sérica, mientras que un Fab es de vida corta (Capon *et al.*, 1989, Nature 337: 525-31). Cuando se unen entre sí con una proteína terapéutica, un dominio de Fc puede proporcionar una semivida más larga o incorporar funciones tales como unión a receptor de Fc, unión a proteína A, fijación del complemento, y quizás incluso transferencia placentaria (Capon *et al.*, 1989).

El análisis farmacocinético *in vivo* indicó que FGF21 humano tiene una semivida corta de aproximadamente 1 hora en ratones debido a aclaramiento y degradación rápidos *in vivo*. Por tanto, para ampliar la semivida de FGF21, se fusionó una secuencia de Fc nativo con el extremo N- o C-terminal del polipéptido de FGF21. La fusión de la secuencia de Fc con FGF21 silvestre, en particularmente Fc fusionado con el extremo N-terminal de FGF21 silvestre, no amplió la semivida tal como se esperaba, sin embargo esta observación condujo a una investigación de la degradación proteolítica de FGF21 *in vivo* y a la identificación de los mutantes de FGF21 que eran resistentes a tal degradación. Tales mutantes se describen, por ejemplo, en los ejemplos 9 y 11, y muestran semividas más largas que FGF21 silvestre. Estas y otras proteínas de fusión de FGF21 forman realizaciones de la presente invención.

En la totalidad de la presente divulgación, Fc-FGF21 se refiere a una proteína de fusión en la que la secuencia de Fc se fusiona con el extremo N-terminal de FGF21. De manera similar, en la totalidad de la descripción, FGF21-Fc se refiere a una proteína de fusión en la que la secuencia de Fc se fusiona con el extremo C-terminal de FGF21.

La proteína de fusión de FGF21 resultante puede purificarse, por ejemplo, mediante el uso de una columna de afinidad de proteína A. se ha encontrado que las proteínas y los péptidos fusionados con una región Fc muestran una semivida sustancialmente mayor *in vivo* que el homólogo sin fusionar. También, una fusión con una región Fc permite la dimerización/multimerización del polipéptido de fusión. La región Fc puede ser una región Fc que se produce de manera natural, o puede alterarse para mejorar determinadas cualidades, tales como cualidades terapéuticas, tiempo de circulación o agregación reducida.

Se tratan modificaciones útiles de agentes terapéuticos proteicos mediante fusión con el dominio de “Fc“ de un anticuerpo en detalle en la publicación internacional n.º WO 00/024782.

b. Ligadores de proteínas de fusión

Al formar las proteínas de fusión de la presente invención, puede emplearse, pero no es necesario, un ligador. Cuando está presente, la estructura química del ligador puede no ser crítica, puesto que sirve principalmente como espaciador. El ligador puede componerse de aminoácidos unidos entre sí mediante enlaces peptídicos. En algunas realizaciones de la presente invención, el ligador se compone de desde 1 hasta 20 aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos, en el que los aminoácidos se seleccionan de los 20 aminoácidos que se producen de manera natural. En diversas realizaciones, los 1 a 20 aminoácidos se seleccionan de los aminoácidos glicina, serina, alanina, prolina, asparagina, glutamina y lisina. En algunas realizaciones, un ligador se compone de una mayoría de aminoácidos que no están impedidos estéricamente, tales como glicina y alanina. En algunas realizaciones, los ligadores son poliglicinas (tales como $(Gly)_4$ (SEQ ID NO:29) y $(Gly)_5$ (SEQ ID NO:30)), polialaninas, combinaciones de glicina y alanina (tales como poli(Gly-Ala)), o combinaciones de glicina y serina (tales como poli(Gly-Ser)). Otros ligadores adecuados incluyen: $(Gly)_5$-Ser-$(Gly)_3$-Ser-$(Gly)_4$-Ser (SEQ ID NO:28), $(Gly)_4$-Ser-$(Gly)_4$-Ser-$(Gly)_4$-Ser (SEQ ID NO:31), $(Gly)_3$-Lys-$(Gly)_4$ (SEQ ID NO:32), $(Gly)_3$-Asn-Gly-Ser-$(Gly)_2$ (SEQ ID NO:33), $(Gly)_3$-Cys-$(Gly)_4$ (SEQ ID NO:34) y Gly-Pro-Asn-Gly-Gly (SEQ ID NO:35). Aunque se ha encontrado que un ligador de 15 residuos de aminoácido funciona particularmente bien para proteínas de fusión de FGF21, la presente invención contempla ligadores de cualquier longitud o composición. Cuando se empleó un ligador para unir una secuencia heteróloga, tal como un dominio de Fc, y un polipéptido de FGF21 o mutante de FGF21, el ligador se expresa entre paréntesis.

Los ligadores descritos en el presente documento son a modo de ejemplo, y se contemplan por la presente invención ligadores que son mucho más largos y que incluyen otros residuos. También se contemplan por la

presente invención ligadores no peptídicos. Por ejemplo, podrían usarse los ligadores de alquilo tales como -NH-$(CH_2)_s$-C(O)-, en los que s = de 2 a 20. Estos ligadores de alquilo pueden sustituirse adicionalmente con cualquier grupo no impedido estéricamente, incluyendo, pero sin limitarse a, un alquilo inferior (por ejemplo, C1-C6), acilo inferior, halógeno (por ejemplo, Cl, Br), CN, NH_2 o fenilo. Un ligador no peptídico a modo de ejemplo es un ligador de polietilenglicol, en el que el ligador tiene un peso molecular de 100 a 5000 kD, por ejemplo, de 100 a 500 kD.

8. Mutantes de FGF21 modificados químicamente

Un experto en la técnica puede preparar formas modificadas químicamente de los mutantes de polipéptido de FGF21 descritos en el presente documento, incluyendo la formas truncadas de FGF21 descritas en el presente documento, dadas las divulgaciones descritas en el presente documento. Tales mutantes de FGF21 modificados químicamente se alteran de tal manera que el mutante de FGF21 modificado químicamente es diferente del mutante de FGF21 sin modificar, o bien en el tipo o bien en la ubicación de las moléculas unidas de manera natural al mutante de FGF21. Los mutantes de FGF21 modificados químicamente pueden incluir moléculas formadas mediante la deleción de uno o más grupos químicos unidos de manera natural.

En una realización, los mutantes de polipéptido de FGF21 de la presente invención pueden modificarse mediante la unión covalente de uno o más polímeros. Por ejemplo, el polímero seleccionado es normalmente soluble en agua de modo que la proteína a la que se une no precipita en un entorno acuoso, tal como un entorno fisiológico. Está incluida dentro del alcance de polímeros adecuados una mezcla de polímeros. Preferiblemente, para uso terapéutico de la preparación del producto final, el polímero será farmacéuticamente aceptable. Los polímeros no solubles en agua conjugados con mutantes de polipéptido de FGF21 de la presente invención también forman un aspecto de la invención.

Cada uno de los polímeros a modo de ejemplo pueden ser de cualquier peso molecular y pueden ser ramificados o no ramificados. Cada uno de los polímeros tiene normalmente un peso molecular promedio de entre aproximadamente 2 kDa y aproximadamente 100 kDa (indicando el término “aproximadamente“ que en preparaciones de un polímero soluble en agua, algunas moléculas pesarán más y algunas menos que el peso molecular establecido). El peso molecular promedio de cada polímero es preferiblemente de entre aproximadamente 5 kDa y aproximadamente 50 kDa, más preferiblemente de entre aproximadamente 12 kDa y aproximadamente 40 kDa, y lo más preferiblemente de entre aproximadamente 20 kDa y aproximadamente 35 kDa.

Los polímeros solubles en agua adecuados o mezclas de los mismos incluyen, pero no se limitan a, hidratos de carbono con unión a N o con unión a O, azúcares, fosfatos, polietilenglicol (PEG) (incluyendo las formas de PEG que se han usado para derivatizar proteínas, incluyendo mono-(C_1-C_{10}), alcoxi- o ariloxi-polietilenglicol), monometoxi-polietilenglicol, dextrano (tal como dextrano de bajo peso molecular de, por ejemplo, aproximadamente 6 kD), celulosa, u otros polímeros basados en hidratos de carbono, poli-(N-vinilpirrolidona) polietilenglicol, homopolímeros de propilenglicol, copolímeros de óxido de poli(óxido de propileno/óxido de etileno), polioles polioxietilados (por ejemplo, glicerol) y poli(alcohol vinílico). También están englobados por la presente invención moléculas de reticulación bifuncionales que pueden usarse para preparar multímeros de mutantes de polipéptido de FGF21 unidos covalentemente. También están englobados por la presente invención mutantes de FGF21 unidos covalentemente a poli(ácido siálico).

En algunas realizaciones de la presente invención, un mutante de FGF21 se modifica covalente, o químicamente para incluir uno o más polímero solubles en agua, incluyendo, pero sin limitarse a, polietilenglicol (PEG), polioxietilenglicol o polipropilenglicol. Véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses n.^{os} 4.640.835; 4.496.689; 4.301.144; 4.670.417; 4.791.192; y 4.179.337. En algunas realizaciones de la presente invención, un mutante de FGF21 comprende uno o más polímeros, incluyendo, pero sin limitarse a, monometoxi-polietilenglicol, dextrano, celulosa, otro polímero basado en hidratos de carbono, poli-(N-vinilpirrolidona)-polietilenglicol, homopolímeros de propilenglicol, un copolímero de óxido de poli(óxido de propileno/óxido de etileno), polioles polioxietilados (por ejemplo, glicerol), poli(alcohol vinílico), o mezclas de tales polímeros.

En algunas realizaciones de la presente invención, un mutante de FGF21 se modifica covalentemente con subunidades de PEG. En algunas realizaciones, uno o más polímeros solubles en agua se unen en una o más posiciones específicas (por ejemplo, en el extremo N-terminal) del mutante de FGF21. En algunas realizaciones, uno o más polímeros solubles en agua se unen aleatoriamente a una o más cadenas laterales de un mutante de FGF21. En algunas realizaciones, se usa PEG para mejorar la capacidad terapéutica de un mutante de FGF21. Se tratan ciertos de tales métodos, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 6.133.426.

En realizaciones de la presente invención en las que el polímero es PEG, el grupo PEG puede ser de cualquier peso molecular conveniente, y puede ser lineal o ramificado. El peso molecular promedio del grupo PEG oscilará preferiblemente entre aproximadamente 2 kD y aproximadamente 100 kDa, y más preferiblemente entre aproximadamente 5 kDa y aproximadamente 50 kDa, por ejemplo, 10, 20, 30, 40 ó 50 kDa. Los grupos PEG se unirán generalmente al mutante de FGF21 mediante acilación o alquilación reductora a través de un grupo reactivo en el resto PEG (por ejemplo, un grupo aldehído, amino, tiol o éster) a un grupo reactivo en el mutante de FGF21 (por ejemplo, un grupo aldehído, amino o éster).

La PEGilación de un polipéptido, incluyendo los mutantes de FGF21 de la presente invención, puede llevarse a cabo específicamente usando cualquiera de las reacciones de PEGilación conocidas en la técnica. Tales reacciones se describen, por ejemplo, en las siguientes referencias: Francis *et al.*, 1992, Focus on Growth Factors 3: 4-10; las patentes europeas n.^{os} 0 154 316 y 0 401 384; y la patente estadounidense n.º 4.179.337. Por ejemplo, la PEGilación puede llevarse a cabo a través de una reacción de acilación o una reacción de alquilación con una molécula de polietilenglicol reactivo (o un polímero soluble en agua reactivo análogo) tal como se describe en el presente documento. Para las reacciones de acilación, un polímero seleccionado debe tener un grupo éster reactivo individual. Para la alquilación reductora, un polímero seleccionado debe tener un grupo aldehído reactivo individual. Un aldehído reactivo es, por ejemplo, propionaldehído de polietilenglicol, que es estable en agua, o derivados de monoalcoxilo o ariloxilo C_1-C_{10} del mismo (véase, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 5.252.714).

En algunas realizaciones de la presente invención, una estrategia útil para la unión del grupo PEG a un polipéptido implica combinar, a través de la formación de una unión de conjugado en disolución, un péptido y un resto PEG, que portan cada uno una funcionalidad especial que es mutuamente reactiva con la otra. Los péptidos pueden prepararse fácilmente con la síntesis en fase sólida convencional. Los péptidos se “preactivan“ con un grupo funcional apropiado en un sitio específico. Los precursores se purifican y se caracterizan por completo antes de hacerse reaccionar con el resto PEG. El ligamiento del péptido con PEG tiene lugar habitualmente en fase acuosa y puede monitorizarse fácilmente mediante HPLC analítica de fase inversa. Los péptidos pegilados pueden purificarse fácilmente mediante HPLC preparativa y pueden caracterizarse mediante HPLC analítica, análisis de aminoácidos y espectrometría de masas de desorción láser.

Los polímeros de polisacáridos son otro tipo de polímeros solubles en agua que pueden usarse para la modificación de proteínas. Por tanto, los mutantes de FGF21 de la presente invención fusionados con un polímero de polisacárido forman realizaciones de la presente invención. Los dextranos son polímeros de polisacáridos que se componen subunidades individuales de glucosa unidas predominantemente mediante uniones alfa 1-6. El dextrano está disponible por sí mismo muchos intervalos de peso molecular, y está fácilmente disponible en pesos moleculares de desde aproximadamente 1 kD hasta aproximadamente 70 kD. El dextrano es un polímero soluble en agua adecuado para su uso como vehículo por sí mismo o en combinación con otro vehículo (por ejemplo, Fc). Véase, por ejemplo, la publicación internacional n.º WO 96/11953. Se ha notificado el uso de dextrano conjugado con inmunoglobulinas terapéuticas o de diagnóstico. Véase, por ejemplo, la publicación de patente europea n.º 0 315 456. La presente invención también engloba el uso de dextrano de aproximadamente 1 kD a aproximadamente 20 kD.

En general, la modificación química puede realizarse con cualesquiera condiciones adecuadas usadas para hacer reaccionar una proteína con una molécula de polímero activada. Los métodos para preparar polipéptidos modificados químicamente, en general, comprenderán las etapas de: (a) hacer reaccionar el polipéptido con la molécula de polímero activada (tal como un derivado de aldehído o éster reactivo de la molécula de polímero) en condiciones mediante las que un mutante de polipéptido de FGF21 llega a unirse a una o más moléculas de polímero, y (b) obtener los productos de reacción. Las condiciones de reacción óptimas se determinarán basándose en parámetros conocidos y el resultado deseado. Un ejemplo de esto es, cuanto más grande es la razón de moléculas de polímero con respecto a la proteína, mayor es el porcentaje de molécula de polímero unida. En una realización de la presente invención, los mutantes de FGF21 modificados químicamente pueden tener un resto de molécula de polímero individual en el extremo amino-terminal (véase, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 5.234.784)

En otra realización de la presente invención, los mutantes de polipéptido de FGF21 pueden acoplarse químicamente con biotina. Luego se permite que los mutantes de polipéptido de biotina/FGF21 se unan a avidina, dando como resultado mutantes de avidina/biotina/polipéptido de FGF21 tetravalentes. Los mutantes de polipéptido de FGF21 también pueden acoplarse covalentemente con dinitrofenol (DNP) o trinitrofenol (TNP) y los conjugados resultantes precipitarse con anticuerpo anti-DNP o anti-TNP-IgM para formar conjugados decaméricos con una valencia de 10.

En general, los estados que pueden aliviarse o modularse mediante la administración de los mutantes de FGF21 modificados químicamente dados a conocer incluyen los estados descritas en el presente documento para los mutantes de polipéptido de FGF21. Sin embargo, los mutantes de FGF21 modificados químicamente dados a conocer en el presente documento pueden tener actividades adicionales, actividad biológica potenciada o reducida, u otras características, tales tal como aumento o disminución de la semivida, en comparación con los mutantes de FGF21 sin modificar.

9. Composiciones farmacéuticas de mutantes de FGF21 y administración de las mismas

Las composiciones farmacéuticas que comprenden mutantes de FGF21 están dentro del alcance de la presente invención, y se contemplan específicamente con vistas a la identificación de varias secuencias de FGF21 mutante que muestran propiedades mejoradas. Tales composiciones farmacéuticas de mutante de FGF21 pueden comprender una cantidad terapéuticamente eficaz de un mutante de polipéptido de FGF21 en mezcla con un agente de formulación farmacéutica o fisiológicamente aceptable seleccionado por su idoneidad con el modo de administración.

Los agentes de formulación aceptables son preferiblemente no tóxicos para los receptores a las dosificaciones y

concentraciones empleadas.

La composición farmacéutica puede contener agente(s) de formulación para modificar, mantener o preservar, por ejemplo, el pH, la osmolaridad, viscosidad, transparencia, el color, la isotonicidad, el olor, la esterilidad, estabilidad, velocidad de disolución o liberación, adsorción o penetración de la composición. Los agentes de formulación adecuados incluyen, pero no se limitan a, aminoácidos (tales como glicina, glutamina, asparagina, arginina o lisina), antimicrobianos, antioxidantes (tales como ácido ascórbico, sulfito de sodio o hidrogenosulfito de sodio), tampones (tales como borato, bicarbonato, Tris-HCl, citratos, fosfatos u otros ácidos orgánicos), agentes de carga (tales como manitol o glicina), agentes quelantes (tales como ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)), agentes de complejación (tales como cafeína, polivinilpirrolidona, beta-ciclodextrina o hidroxipropil-beta-ciclodextrina), cargas, monosacáridos, disacáridos y otros hidratos de carbono (tales como glucosa, manosa o dextrinas), proteínas (tales como albúmina sérica, gelatina o inmunoglobulinas), agentes colorantes, saborizantes y de dilución, agentes emulsionantes, polímeros hidrofílicos (tales como polivinilpirrolidona), polipéptidos de bajo peso molecular, contraiones de formación de sal (tales como sodio), conservantes (tales como cloruro de benzalconio, ácido benzoico, ácido salicílico, timerosal, alcohol fenetílico, metilparabeno, propilparabeno, clorhexidina, ácido sórbico o peróxido de hidrógeno), disolventes (tales como glicerina, propilenglicol o polietilenglicol), alcoholes de azúcar (tales como manitol o sorbitol), agentes de suspensión, surfactantes o agentes humectantes (tales como Pluronic; PEG; ésteres de sorbitano; polisorbatos tales como polisorbato 20 o polisorbato 80; Triton; trometamina; lecitina; colesterol o tiloxapol), agentes de potenciación de la estabilidad (tales como sacarosa o sorbitol), agentes de potenciación de la tonicidad (tales como haluros de metal alcalino, preferiblemente cloruro de sodio o de potasio, o manitol, sorbitol), vehículos de administración, diluyentes, excipientes y/o adyuvantes farmacéuticos (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences (18ª ed., A.R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company 1990), y posteriores ediciones del mismo).

La composición farmacéutica óptima la determinará un experto en la técnica dependiendo de, por ejemplo, la vía de administración propuesta, el formato de administración y la dosificación deseada (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, citado anteriormente). Tales composiciones pueden influir en el estado físico, la estabilidad, tasa de liberación *in vivo* y tasa de aclaramiento *in vivo* del mutante de polipéptido de FGF21.

El vehículo o portador primario en una composición farmacéutica puede ser de naturaleza o bien acuosa o bien no acuosa. Por ejemplo, un vehículo o portador adecuado para inyección puede ser agua, solución salina fisiológica o líquido cefalorraquídeo artificial, complementados posiblemente con otros materiales comunes en las composiciones para administración parenteral. La solución salina tamponada neutra o solución salina mezclada con albúmina sérica son vehículos a modo de ejemplo. Otras composiciones farmacéuticas a modo de ejemplo comprenden tampón Tris de aproximadamente pH 7,0-8,5 o tampón acetato de aproximadamente pH 4,0-5,5, que pueden incluir además sorbitol o un sustituto adecuado. En una realización de la presente invención, pueden prepararse composiciones de mutante de polipéptido de FGF21 para almacenamiento mezclando la composición seleccionada que tiene el grado de pureza deseado con agentes de formulación opcionales (Remington's Pharmaceutical Sciences, citado anteriormente) en forma de una torta liofilizada o una disolución acuosa. Además, el producto de mutante de polipéptido de FGF21 puede formularse como un liofilizado usando excipientes apropiados tales como sacarosa.

Las composiciones farmacéuticas de mutante de polipéptido de FGF21 pueden seleccionarse para administración parenteral. Alternativamente, las composiciones pueden seleccionarse para inhalación o para administración a través del tracto digestivo, tal como por vía oral. La preparación de tales composiciones farmacéuticamente aceptables está dentro de los conocimientos de la técnica.

Los componentes de formulación están presentes en concentraciones que son aceptables para el sitio de administración. Por ejemplo, los tampones se usan para mantener la composición a pH fisiológico o a un pH ligeramente menor, normalmente dentro de un intervalo de pH de desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 8.

Cuando se contempla la administración parenteral, las composiciones terapéuticas para su uso en esta invención pueden ser en forma de una disolución acuosa, aceptable por vía parenteral, libre de pirógenos que comprende el mutante de polipéptido de FGF21 deseado en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Un vehículo particularmente adecuado para inyección parenteral es agua destilada estéril en la que se formula un mutante de polipéptido de FGF21 como una disolución estéril, isotónica, conservada apropiadamente. Aún otra preparación puede implicar la formulación de la molécula deseada con un agente, tal como microesferas inyectables, partículas bioerosionables, compuestos poliméricos (tales como poli(ácido láctico) o poli(ácido glicólico)), perlas o liposomas, que proporcionan la liberación controlada o sostenida del producto que luego puede administrarse a través de una inyección de medicamento de liberación lenta. También puede usarse ácido hialurónico, y este puede tener el efecto de promover una duración sostenida en la circulación. Otros medios adecuados para la introducción de la molécula deseada incluyen dispositivos de administración de fármacos implantables.

En una realización, puede formularse una composición farmacéutica para inhalación. Por ejemplo, puede formularse un mutante de polipéptido de FGF21 como polvo seco para inhalación. Las disoluciones de inhalación de mutante de polipéptido de FGF21 también pueden formularse con un propelente para la administración en aerosol. En aún otra realización, las disoluciones pueden nebulizarse. La administración pulmonar se describe adicionalmente en la

publicación internacional n.º WO 94/20069, que describe la administración pulmonar de proteínas modificadas químicamente.

También se contempla que determinadas formulaciones pueden administrarse por vía oral. En una realización de la presente invención, los mutantes de polipéptido de FGF21 que se administran de este modo pueden formularse con o sin aquellos portadores usados habitualmente en la combinación de formas de dosificación sólidas tales como comprimidos y cápsulas. Por ejemplo, una cápsula puede diseñarse para liberar la parte activa de la formulación en el punto del tracto gastrointestinal en el que se maximiza la biodisponibilidad y se minimiza la degradación presistémica. Pueden incluirse agentes adicionales para facilitar la absorción del mutante de polipéptido de FGF21. También pueden emplearse diluyentes, saborizantes, ceras de bajo punto de fusión, aceites vegetales, lubricantes, agentes de suspensión, agentes disgregantes de comprimidos y aglutinantes.

Otra composición farmacéutica puede implicar una cantidad eficaz de mutantes de polipéptido de FGF21 en una mezcla con excipientes no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Disolviendo los comprimidos en agua estéril, u otro vehículo apropiado, pueden prepararse disoluciones en forma de dosis unitaria. Los excipientes adecuados incluyen, pero no se limitan a, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato o bicarbonato de sodio, lactosa o fosfato de calcio; o agentes de unión, tales como almidón, gelatina o goma arábiga; o agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, ácido esteárico o talco.

Las composiciones farmacéuticas de mutante de polipéptido de FGF21 adicionales resultarán evidentes para los expertos en la técnica, incluyendo formulaciones que implican mutantes de polipéptido de FGF21 en formulaciones de administración sostenida o controlada. Los expertos en la técnica también conocen técnicas para formular una variedad de otros medios de administración sostenida o controlada, tales como portadores de liposomas, micropartículas bioerosionables o perlas porosas y inyecciones de medicamentos de liberación lenta (véase, por ejemplo, la publicación internacional n.º WO 93/15722, que describe la liberación controlada de micropartículas poliméricas porosas para la administración de composiciones farmacéuticas, y Wischke & Schwendeman, 2008, Int. J. Pharm. 364: 298-327 y Freiberg & Zhu, 2004, Int. J. Pharm. 282: 1-18, que tratan sobre la preparación de microesferas/micropartículas y su uso). Tal como se describe en el presente documento, un hidrogel es un ejemplo de una formulación de administración sostenida o controlada.

Los ejemplos adicionales de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices poliméricas semipermeables en forma de artículos conformados, por ejemplo películas o microcápsulas. Las matrices de liberación sostenida pueden incluir poliésteres, hidrogeles, polilactidas (patente estadounidense n.º 3.773.919 y patente europea n.º 0 058 481), copolímeros de ácido L-glutámico y L-glutamato de gamma-etilo (Sidman *et al.*, 1983, Biopolimers 22: 547-56), poli (metacrilato de 2-hidroxietilo) (Langer *et al.*, 1981, J. Biomed. Mater. Res. 15: 167-277 y Langer, 1982, Chem. Tech. 12: 98-105), etileno-acetato de vinilo (Langer *et al.*, citado anteriormente) o poli (ácido D(-)-3-hidroxibutírico) (patente europea n.º 0 133 988). Las composiciones de liberación sostenida también pueden incluir liposomas, que pueden prepararse mediante cualquiera de varios métodos conocidos en la técnica. Véanse, por ejemplo, Epstein *et al.*, 1985, Proc. Natl. Acad. ScL U.S.A. 82: 3688-92; y las patentes europeas n.^{os} 0 036 676, 0 088 046 y 0 143 949.

La composición farmacéutica de mutante de polipéptido de FGF21 que va a usarse para administración *in vivo* normalmente debe ser estéril. Esto puede llevarse a cabo mediante filtración a través de membranas de filtración estériles. Cuando se liofiliza la composición, la esterilización que usa este método puede realizarse o bien antes de, o bien tras, la liofilización y reconstitución. La composición para la administración parenteral puede almacenarse en forma liofilizada o en una disolución. Además, en general, las composiciones parenterales se colocan en un envase que tiene un orificio de acceso estéril, por ejemplo, una bolsa de disolución intravenosa o vial que tiene un tapón perforable mediante una aguja de inyección hipodérmica.

Una vez que se ha formulado la composición farmacéutica, puede almacenarse en viales estériles como disolución, suspensión, gel, emulsión, sólido o como polvo deshidratado o liofilizado. Tales formulaciones pueden almacenarse o bien en una forma lista para usar o en una forma (por ejemplo, liofilizada) que requiere reconstitución antes de la administración.

En una realización específica, la presente invención se refiere a kits para producir una unidad de administración de dosis única. Los kits pueden contener cada uno tanto un primer envase que tiene una proteína secada como un segundo envase que tiene una formulación acuosa. También están incluidos dentro del alcance de esta invención kits que contienen jeringas precargadas de una y múltiples cámaras (por ejemplo, jeringas para líquido y liojeringas).

La cantidad eficaz de una composición farmacéutica de mutante de polipéptido de FGF21 que va a emplearse terapéuticamente dependerá, por ejemplo, del contexto y los objetivos terapéuticos. Un experto en la técnica apreciará que los niveles de dosificación apropiados para el tratamiento variarán por tanto dependiendo, en parte, de la molécula administrada, la indicación para la que está usándose el mutante de polipéptido de FGF21, la vía de administración y el tamaño (peso corporal, superficie corporal o tamaño de órganos) y el estado (la edad y salud general) del paciente. Por consiguiente, el médico clínico puede ajustar la dosificación y modificar la vía de administración para obtener el efecto terapéutico óptimo. Una dosificación típica puede oscilar entre aproximadamente 0,1 μg/kg y aproximadamente 100 mg/kg o más, dependiendo de los factores mencionados

anteriormente. En otras realizaciones, la dosificación puede oscilar entre 0,1 μg/kg y aproximadamente 100 mg/kg; o entre 1 μg/kg y aproximadamente 100 mg/kg; o entre 5 μg/kg, 10 μg/kg, 15 μg/kg, 20 μg/kg, 25 μg/kg, 30 μg/kg, 35 μg/kg, 40 μg/kg, 45 μg/kg, 50 μg/kg, 55 μg/kg, 60 μg/kg, 65 μg/kg, 70 μg/kg, 75 μg/kg y aproximadamente 100 mg/kg. En aún otras realizaciones, la dosificación puede ser de 50 μg/kg, 100 μg/kg, 150 μg/kg, 200 μg/kg, 250 μg/kg, 300 μg/kg, 350 μg/kg, 400 μg/kg, 450 μg/kg, 500 μg/kg, 550 μg/kg, 600 μg/kg, 650 μg/kg, 700 μg/kg, 750 μg/kg, 800 μg/kg, 850 μg/kg, 900 μg/kg, 950 μg/kg, 100 μg/kg, 200 μg/kg, 300 μg/kg, 400 μg/kg, 500 μg/kg, 600 μg/kg, 700 μg/kg, 800 μg/kg, 900 μg/kg, 1000 μg/kg, 2000 μg/kg, 3000 μg/kg, 4000 μg/kg, 5000 μg/kg, 6000 μg/kg, 7000 μg/kg, 8000 μg/kg, 9000 μg/kg o 10 mg/kg.

La frecuencia de dosificación dependerá de los parámetros farmacocinéticos del mutante de polipéptido de FGF21 en la formulación que esté usándose. Normalmente, un médico clínico administrará la composición hasta que se alcance una dosificación que logre el efecto deseado. Por tanto, la composición puede administrarse como una dosis única, como dos o más dosis (que pueden contener o no la misma cantidad de la molécula deseada) a lo largo del tiempo o como infusión continua a través de un catéter o dispositivo de implantación . El ajuste con precisión adicional de la dosificación apropiada se realiza de manera rutinaria por los expertos habituales en la técnica y está dentro del ámbito de las tareas realizadas de manera rutinaria por ellos. Pueden determinarse dosificaciones apropiadas a través del uso de datos de dosis-respuesta apropiados.

La vía de administración de la composición farmacéutica es según métodos conocidos , por ejemplo, por vía oral; a través de inyección por las vías intravenosa, intraperitoneal, intracerebral (intraparenquimatosa), intracerebroventricular, intramuscular, intraocular, intraarterial, intraportal o intralesional; mediante sistemas de liberación sostenida (que también pueden inyectarse); o mediante dispositivos de implantación. Cuando se desee, las composiciones pueden administrarse mediante inyección en bolo o de manera continua mediante infusión, o mediante un dispositivo de implantación.

Alternativa o adicionalmente, la composición puede administrarse localmente a través de la implantación de una membrana, esponja, u otro material apropiado sobre el que se ha absorbido o encapsulado la molécula deseada. Cuando se usa un dispositivo de implantación, el dispositivo puede implantarse en cualquier tejido u órgano adecuado, y la administración de molécula deseada puede ser a través de difusión, bolo de liberación prolongada o administración continua.

Para administrar un fármaco, por ejemplo, un mutante de FGF21 dado a conocer en el presente documento, a una tasa predeterminada de tal manera que la concentración del fármaco pueda mantenerse a un nivel terapéuticamente eficaz deseado a lo largo de un periodo prolongado, puede emplearse una variedad de diferentes enfoques. En un ejemplo, puede emplearse un hidrogel que comprende un polímero tal como una gelatina (por ejemplo, gelatina bovina, gelatina humana o gelatina de otra fuente) o un polímero que se produce de manera natural o que se genera mediante síntesis. Cualquier porcentaje de polímero (por ejemplo, gelatina) puede emplearse en un hidrogel, tal como el 5, el 10, el 15 o el 20%. La selección de una concentración apropiada puede depender de una variedad de factores, tales como el perfil terapéutico deseado y el perfil farmacocinético deseado de la molécula terapéutica.

Los ejemplos de polímeros que pueden incorporarse a un hidrogel incluyen polietilenglicol (“PEG”), poli(óxido de etileno), poli(óxido de etileno)-co-poli(óxido de propileno), copolímeros al azar o de bloque de co-poli(óxido de etileno) ,poli(alcohol vinílico), polivinilpirrolidinona, poli(aminoácidos), dextrano, heparina, polisacáridos, poliéteres y similares.

Otro factor que puede considerarse cuando se genera una formulación de hidrogel es el grado de reticulación en el hidrogel y el agente de reticulación. En una realización, la reticulación puede lograrse a través de una reacción de metacrilación que implica anhídrido metacrílico. En algunas situaciones, puede desearse un alto grado de reticulación mientras que en otras situaciones se prefiere un bajo grado de reticulación. En algunos casos, un alto grado de reticulación proporciona una liberación sostenida más larga. Un alto grado de reticulación puede proporcionar un hidrogel más firme y un periodo más largo a lo largo del cual se administra el fármaco.

Puede emplearse cualquier razón de polímero con respecto a agente de reticulación (por ejemplo, anhídrido metacrílico) para generar un hidrogel con propiedades deseadas. Por ejemplo, la razón de polímero con respecto a agente de reticulación puede ser, por ejemplo, de 8:1, 16:1, 24:1 ó 32:1. Por ejemplo, cuando el polímero de hidrogel es gelatina y el agente de reticulación es metacrilato, pueden emplearse razones de anhídrido metacrílico:gelatina de 8:1, 16:1, 24:1 ó 32:1.

10. Usos terapéuticos de mutantes de polipéptido de FGF21

Los mutantes de polipéptido de FGF21 pueden usarse para tratar, diagnosticar, mejorar o prevenir varias enfermedades, trastornos o estados, incluyendo, pero sin limitarse a trastornos metabólicos. En una realización, el trastorno metabólico que va a tratarse es diabetes, por ejemplo, diabetes tipo 2. En otra realización, el trastorno metabólico es obesidad. Otras realizaciones incluyen estados o trastornos metabólicos tales como dislipidimia; hipertensión; hepatoesteatosis, tal como esteatohepatitis no alcohólica (EHNA); enfermedad cardiovascular, tal como aterosclerosis; y envejecimiento.

En aplicación, un trastorno o estado tal como diabetes u obesidad pueden tratarse administrando un mutante de polipéptido de FGF21 tal como se describe en el presente documento a un paciente que lo necesita en la cantidad de una dosis terapéuticamente eficaz. La administración puede realizarse tal como se describe en el presente documento, tal como mediante inyección i.v., inyección intraperitoneal, inyección intramuscular o por vía oral en forma de comprimido o formación líquida. En la mayoría de las situaciones, una dosificación deseada puede determinarse por un médico clínico, tal como se describe en el presente documento, y puede representar una dosis terapéuticamente eficaz del polipéptido mutante de FGF21. Resultará evidente para los expertos en la técnica que una dosis terapéuticamente eficaz de polipéptido mutante de FGF21 dependerá, entre otras cosas, de la pauta posológica, la dosis unitaria de agente administrado, si la molécula de ácido nucleico o polipéptido se administra en combinación con otros agentes terapéuticos, el estado inmunitario y la salud del receptor. El término “dosis terapéuticamente eficaz,” tal como se usa en el presente documento, significa que la cantidad de polipéptido mutante de FGF21 que provoca la respuesta biológica o farmacéutica en un sistema tisular, animal o ser humano que busca un investigador, doctor u otro médico clínico, que incluye el alivio de los síntomas de la enfermedad o el trastorno que esté tratándose.

Ejemplos

Los ejemplos que siguen son ilustrativos de realizaciones específicas de la invención, y diversos usos de las mismas.

Ejemplo 1

Preparación de constructos de expresión de FGF21

Se obtuvo una secuencia de ácido nucleico que codifica para el polipéptido de FGF21 maduro mediante amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) usando cebadores que tienen secuencias de nucleótidos correspondientes a los extremos 5’ y 3’ de la secuencia de FGF21 maduro. La tabla 2 enumera los cebadores que se usaron para amplificar la secuencia de FGF21 maduro.

Tabla 2

Cebadores de PCR para preparar el constructo de FGF21

Cebador	Secuencia	SEQ ID NO:
Sentido	5'-AGGAGGAATAACATATGCATCCAATTCCAGATTCTTCTCC-3'	12
Antisentido	5'-TAGTGAGCTCGAATTCTTAGGAAGCGTAGCTGG-3'	13

Los cebadores usados para preparar el constructo de expresión de FGF21 maduro incorporaban sitios de endonucleasa de restricción (el sitio NdeI también comprende una metionina N-terminal para la expresión bacteriana) para la clonación direccional de la secuencia en un vector de expresión adecuado (por ejemplo, pET30 (Novagen/EMD Biosciences; San Diego, CA) o pAMG33 (Amgen; Thousand Oaks, CA)). El vector de expresión pAMG33 contiene un origen de replicación R-100 de bajo número de copias, un promotor *lac* modificado y un gen de resistencia a kanamicina. El vector de expresión pET30 contiene un origen de replicación derivado de pBR322, un promotor de T7 inducible y un gen de resistencia a kanamicina. Cuando se encontró que la expresión a partir de pAMG33 era mayor, se encontró que pET30 era un vector de clonación más fiable. Por tanto, la mayoría de los constructos descritos en la presente divulgación se generaron en primer lugar en pET30 y luego se examinaron para determinar su eficacia. Luego se transfirieron secuencias seleccionadas a pAMG33 para amplificación adicional.

Se amplificó la secuencia de FGF21 en una mezcla de reacción que contenía 40,65 μl de dH_2O, 5 μl de tampón de reacción PfuUltra II (10x), 1,25 μl de mezcla de dNTP (40 mM - 4 x 10 mM), 0,1 μl de molde (100 ng/ml), 1 μl de cebador 1 (10 μM), 1 μl de cebador 2 (10 μM), y 1 μl de ADN polimerasa PfuUltra II fusión HS (Stratagene; La Jolla, CA). Se realizaron las reacciones de amplificación calentando durante 2 minutos a 95ºC; seguido por diez ciclos a 95ºC durante 20 segundos, 60ºC durante 20 segundos (restándose 1ºC adicional por ciclo) y 72ºC durante 15 segundos/kilobase de producto deseado; seguido por 20 ciclos a 94ºC durante 20 segundos, 55ºC durante 20 segundos y 72ºC durante 15 segundos/kilobase de producto deseado; seguido por 72ºC durante 3 minutos. Se digirieron los productos de amplificación con las endonucleasas de restricción NdeI, DpnI y EcoRI; se ligaron en un vector adecuado; y luego se transformaron en células competentes.

Ejemplo 2

Purificación de proteínas FGF21 de bacterias

En los ejemplos que siguen, se expresaron diversas proteínas FGF21, incluyendo el polipéptido de FGF21 silvestre, polipéptidos de FGF21 truncados, mutantes de FGF21 y proteínas de fusión de FGF21, en un sistema de expresión bacteriano. Después de la expresión, que se describe a continuación, se purificaron las proteínas FGF21 tal como se describe en este ejemplo, a menos que se indique de otro modo.

Para purificar el polipéptido de FGF21 silvestre, polipéptidos de FGF21 truncados y mutantes de FGF21 de cuerpos de inclusión bacterianos, se solubilizaron cuerpos de inclusión sometidos a doble lavado (DWIB, *double-washed inclusion bodies*) en un tampón de solubilización que contenía clorhidrato de guanidina y DTT en tampón Tris a pH 8,5. Luego se mezclaron durante una hora a temperatura ambiente, y se añadió la mezcla de solubilización a un tampón de replegamiento que contenía urea, arginina, cisteína y clorhidrato de cistamina a pH 9,5 y luego se mezclaron durante 24 horas a 5ºC (véanse, por ejemplo, Clarke, 1998, Curr. Opin. Biotechnol. 9: 157-63; Mannall *et al.*, 2007, Biotechnol. Bioeng. 97: 1523-34; Rudolph *et al.*, 1997, "Folding Proteins", Protein Function: A Practical Approach (Creighton, ed., Nueva York, IRL Press) 57-99; e Ishibashi *et al.*, 2005, Protein Expr. Purif. 42: 1-6).

Tras la solubilización y el replegamiento, se filtró la mezcla a través de un filtro de 0,45 micrómetros. Luego se concentró la combinación de replegamiento aproximadamente 10 veces con un casete Pall Omega de punto de corte de peso molecular de 10 kD a una presión transmembrana (PTM) de 20 psi, y se sometió a diafiltración con 3 volúmenes de columna de Tris 20 mM, pH 8,0 a una PTM de 20 psi.

Luego se sometió la muestra aclarada a cromatografía de intercambio aniónico (AEX) usando una resina Q Sepharose HP. Se ejecutó un gradiente salino lineal de NaCl de 0 a 250 mM en Tris 20 mM a pH 8,0 a 5ºC. Se analizaron las fracciones de picos mediante SDS-PAGE y se combinaron.

Luego se sometió la combinación de eluato de AEX a cromatografía de interacción hidrófoba (HIC) usando una resina Phenyl-Sepharose HP. Se eluyó la proteína usando un gradiente lineal decreciente de sulfato de amonio de 0,7 M a 0 M a pH 8,0 y temperatura ambiental. Se analizaron las fracciones de picos mediante SDS-PAGE (Laemmli, 1970, Nature 227: 680-85) y se combinaron.

Se concentró la combinación de HIC con un casete de 0,2 m^2 Pall Omega de punto de corte de peso molecular de 10 kD hasta 7 mg/ml a una PTM de 20 psi. Se sometió el concentrado a diafiltración con 5 volúmenes de columna de tampón de formulación a una PTM de 20 psi, y se diluyó el concentrado recuperado hasta 5 mg/ml. Finalmente, se filtró la disolución a través de una membrana Pall mini-Kleenpac de 0,2 μM de Posidyne.

Para purificar proteínas de fusión de FGF21 y proteínas mutantes de fusión de FGF21 de cuerpos de inclusión bacterianos, se solubilizaron cuerpos de inclusión sometidos a doble lavado (DWIB) en un tampón de solubilización que contenía clorhidrato de guanidina y DTT en tampón Tris a pH 8,5 y luego se mezclaron durante una hora a temperatura ambiente. Luego se añadió la mezcla de solubilización a un tampón de replegamiento que contenía urea, arginina, cisteína y clorhidrato de cistamina a pH 9,5 y luego se mezclaron durante 24 horas a 5ºC (véanse, por ejemplo, Clarke, 1998, Curr. Opin. Biotechnol. 9: 157-63; Mannall *et al.*, 2007, Biotechnoh Bioeng. 97: 1523-34; Rudolph *et al.*, 1997, "Folding Proteins", Protein Function: A Practical Approach (Creighton, ed., Nueva York, IRL Press) 57-99; e Ishibashi *et al.*, 2005, Protein Expr. Purif. 42 : 1 -6).

Tras la solubilización y el replegamiento, se dializó la mezcla frente a 5 volúmenes de Tris 20 mM, pH 8,0 usando tubos para diálisis de 10 kD. Se ajustó el pH del material de replegamiento dializado a 5,0 con ácido acético al 50%, y luego se aclaró mediante centrifugación durante 30 minutos a 4K.

Luego se sometió la muestra aclarada a cromatografía de intercambio aniónico (AEX) usando una resina Q Sepharose HP. Se ejecutó un gradiente salino lineal de NaCl de 0 a 250 mM en Tris 20 mM a pH 8,0 a 5ºC. Se analizaron las fracciones de picos mediante SDS-PAGE (Laemmli, 1970, Nature 227: 680-85) y se combinaron.

Luego se sometió la combinación de eluato de AEX a cromatografía de interacción hidrófoba (HIC) usando una resina Phenyl-Sepharose HP. Se eluyó la proteína usando un gradiente lineal decreciente de sulfato de amonio de 0,6 M a 0 M a pH 8,0 a temperatura ambiental. Se analizaron las fracciones de picos mediante SDS-PAGE y se combinaron.

Tras la etapa de HIC, luego se dializó la combinación con 60 volúmenes de tampón de formulación. Se concentró la combinación dializada hasta 5 mg/ml usando un aparato Pall Jumbosep. Finalmente, se filtró la disolución a través de una membrana Pall mini-Kleenpac de 0,2 μM de Posidyne.

Ejemplo 3

Preparación y expresión de proteínas FGF21 truncadas

Se prepararon constructos que codifican para las proteínas FGF21 truncadas enumeradas en la tabla 3 mediante amplificación por PCR del vector de expresión de FGF21 silvestre tal como se describe a continuación (la construcción del vector de expresión de FGF21 silvestre se describe en el ejemplo 1).

Tabla 3

Truncamientos de FGF21

Residuos de aminoácido	Número de residuos truncados*

Truncamientos en el extremo C-terminal	
1-180	1
1-179	2
1-178	3
1-177	4
1-176	5
1-175	6
1-174	7
1-173	8
1-172	9
1-171	10
1-169	12
1-168	13
1-167	14
1-166	15
1-165	16
1-164	17
1-160	21
1-156	25
1-152	29
1-149	32
1-113	68
Truncamientos en el extremo N-terminal	
2-181	1
3-181	2
4-181	3
5-181	4
6-181	5
7-181	6
8-181	7
9-181	8
Truncamientos en el extremo C- y N-terminal	
5-174	11
7-172	17
9-169	20
9-149	40
15-169	26
15-149	46
15-113	82

* con relación al polipéptido de FGF21 maduro

Se prepararon constructos de proteína FGF21 truncada usando cebadores que tienen secuencias que son homólogas a regiones en el sentido de 3' y en el sentido de 5' de un codón (o codones) que va a delecionarse (dando como resultado el truncamiento). Los cebadores usados en tales reacciones de amplificación también proporcionaron aproximadamente 15 nucleótidos de secuencia solapante para permitir la recircularización del producto amplificado, concretamente todo el vector que tiene ahora el mutante o truncamiento deseado.

Se preparó un constructo de FGF21 truncado a modo de ejemplo, que codifica para una proteína FGF21 que carece del residuo de histidina en la posición 1 de la secuencia de FGF21 maduro (es decir, el mutante de truncamiento 2-181), usando los cebadores mostrados en la tabla 4.

Tabla 4

Cebadores de PCR para preparar el mutante de FGF21 de truncamiento de modo de ejemplo

Cebador	Secuencia	SEQ ID NO:
Sentido	5'-GGAGATATACATATGCCAATTCCAGATTCTTCTCCATTATT-3'	14
Antisentido	5'-CATATGTATATCTCCTTCTTAAAGTTAAACAAAA-3'	15

Los cebadores mostrados en la tabla 4 permiten la deleción del residuo de histidina tal como se muestra a continuación, en los que la secuencia superior (SEQ ID NO:9) es una parte de un polipéptido de FGF21 maduro que comprende una metionina N-terminal, la segunda secuencia es el cebador sentido (SEQ ID NO: 14), las secuencias tercera y cuarta (SEQ ID NO: 17 y 18) son partes de un constructo de expresión de FGF21, y la quinta secuencia es

el cebador antisentido (SEQ ID NO: 16):

```
                                MetHisProIleProAspSerSerProLeu
                  5'-GGAGATATACATATG---
CCAATTCCAGATTCTTCTCCATTATT
TTTTGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGCATCCAATTCCAGATTCTTCTCCATTAT
T
AAAACAAATTGAAATTCTTCCTCTATATGTATACGTAGGTTAAGGTCTAAGAAGAGGTAATA
A
AAAACAAATTGAAATTCTTCCTCTATATGTATAC-5'
```

Se prepararon constructos de proteína FGF21 truncada usando esencialmente las condiciones de PCR descritas en el ejemplo 1. Se digirieron los productos de amplificación con la endonucleasa de restricción DpnI, y luego se transformaron en células competentes. Se secuenciaron los clones resultantes para confirmar la ausencia de errores generados por la polimerasa.

Se expresaron proteínas FGF21 truncadas transformando células competentes BL21 (DE3) o BL21 Star (Invitrogen; Carlsbad, CA) con el constructo que codifica para una proteína FGF21 truncada particular. Se hicieron crecer los transformantes durante la noche con aireación limitada en medios TB complementados con kanamicina 40 μg/ml, se airearon a la mañana siguiente, y después de un corto periodo de recuperación, se indujeron en IPTG 0,4 mM. Se recogieron los mutantes de FGF21 mediante centrifugación 18-20 horas después de la inducción.

Ejemplo 4

Actividad *in vitro* de proteínas FGF21 truncadas

Se realizaron experimentos para identificar proteínas FGF21 truncadas que conservan actividad de FGF21 silvestre en un ensayo *in vitro* de ELK-luciferasa. La tabla 5 resume los resultados obtenidos para proteínas FGF21 que tienen truncamientos en el extremo N-terminal, el extremo C-terminal, o tanto en el extremo N-terminal como en el extremo C-terminal. Se realizaron ensayos de ELK-luciferasa usando un sistema de células de riñón 293T humanas recombinantes, en el que las células 293T sobreexpresan constructos de indicador de luciferasa y β-Klotho. Estos constructos también contienen secuencias que codifican para GAL4-ELK1 y 5xUAS-Luc, un indicador de luciferasa dirigido por un promotor que contiene cinco copias en tándem del sitio de unión a Gal4. β-Klotho es un correceptor que se requiere por FGF21 para la activación de sus receptores de FGF y la inducción de transducción de señales intracelulares, que conduce a su vez a fosforilación de Erk y ELK. La actividad luciferasa está regulada por el nivel de Erk/ELK1 fosforilado, y se usa para indirectamente monitorizar y cuantificar la actividad de FGF21.

Se realizaron ensayos de ELK-luciferasa cultivando las células 293T en presencia de diferentes concentraciones de FGF21 silvestre o polipéptido mutante de FGF21 durante 6 horas, y luego sometiendo a ensayo los lisados celulares para determinar la actividad luciferasa. Las figuras 1A-1B muestran los resultados de un ensayo de actividad ELK-luciferasa realizado con los mutantes de truncamiento de FGF21 7-181 y 8-181 (figura 1A) y los mutantes de truncamiento de FGF21 1-172, 1-171, 1-169 y 1-164 (figura 1B). La luminiscencia obtenida en los ensayos de ELK-luciferasa para cada uno de los mutantes de truncamiento de FGF21 3-181, 4-181, 5-181, 7-181, 8-181, 1-180, 1-178, 1-177, 1-176, 1-175, 1-174, 1-173, 1-172, 9-181 y 1-149 se muestra en la figura 2.

Se compararon polipéptidos mutantes de FGF21 con un patrón de FGF21 silvestre y se consideró que los mutantes que mostraron una eficacia de al menos el 50% de la eficacia de FGF21 silvestre no habían perdido la actividad de FGF21 y se les asignó un “+” en la tabla 5.

Tabla 5

Proteínas FGF21 truncadas: Ensayo *in vitro*

Truncamientos en el extremo C-terminal		
Residuos de aminoácido	Eficacia	Actividad (+/-)
1-180	93,2%	+
1-178	95,0%	+
1-177	112,0%	+
1-176	104,8%	+

1-174	104,6%	+
1-173	96,1%	+
1-172	97,5%	+
1-171	113,0%	+
1-169	84,9%	+
1-167	20%	-
1-166	20%	-
1-165	10%	-
Truncamientos en el extremo N-terminal		
2-181	112,5%	+
3-181	130,3%	+
4-181	117,0%	+
5-181	119,6%	+
7-181	74,2%	+
8-181	24,9%	-
9-181	12,5%	-

Colectivamente, los resultados presentados en la tabla 5 indican que deleciones C-terminales de 14 residuos de aminoácido o más (es decir, una proteína FGF21 truncada de manera C-terminal que consiste en los residuos de aminoácido 1-167 y proteínas más cortas) eliminan la actividad de FGF21. Además, la tabla 5 indica que deleciones N-terminales de 7 o más residuos de aminoácido (es decir, una proteína FGF21 truncada de manera N-terminal que consiste en los residuos de aminoácido 8-181 y proteínas más cortas) eliminan la actividad de FGF21. De manera no sorprendente, se encontró que las proteínas FGF21 truncadas que presentan tanto un truncamiento N-terminal de 8 a 14 residuos como un truncamiento C-terminal de 12 ó 32 residuos carecían de actividad en los ensayos de ELK-luciferasa.

De manera acorde con los datos presentados en la tabla 5, los polipéptidos de FGF21 truncados que tienen truncamientos N-terminales de menos de 7 residuos de aminoácido constituyen realizaciones de la presente invención. De manera similar, los polipéptidos de FGF21 truncados que tienen truncamientos C-terminales de menos de 13 residuos de aminoácido constituyen realizaciones de la presente invención.

Ejemplo 5

Actividad *in vivo* de proteínas FGF21 truncadas

FGF21 presenta varias actividades biológicas, incluyendo la capacidad para disminuir los niveles de glucemia, insulina, triglicéridos o colesterol; reducir el peso corporal; o mejorar la tolerancia a la glucosa, el gasto de energía o la sensibilidad a la insulina. Se analizaron adicionalmente polipéptidos de FGF21 truncados para determinar la actividad *in vivo* de FGF21, introduciendo los polipéptidos de FGF21 truncados en ratones ob/ob con resistencia a insulina, y midiendo la capacidad de un polipéptido de FGF21 truncado particular para disminuir la glucemia. Se inyectó el polipéptido de FGF21 truncado que iba a someterse a prueba por vía intraperitoneal a un ratón ob/ob de 8 semanas de edad (Jackson Laboratory), y se extrajeron muestras de sangre en diversos puntos de tiempo tras una única inyección, por ejemplo, 0, 6, 24, 72, 120 y 168 horas después de la inyección. Se midieron los niveles de glucemia con un glucómetro OneTouch (LifeScan, Inc. Milpitas, CA), y se expresaron los resultados como un porcentaje de cambio de la glucemia en relación con el nivel inicial de glucemia (es decir, a tiempo 0).

Se proporcionan los resultados de un experimento en la figura 3, que muestra la cantidad de glucemia detectada en ratones a los que se les inyectaron los mutantes de truncamiento de FGF21 8-181 y 9-181. Este experimento demostró que proteínas de fusión de FGF21 truncado que comprenden los residuos de aminoácido 8-181 muestran actividad hipoglucemiante *in vivo*, sin embargo la actividad es ligeramente menor que la actividad de FGF21 silvestre a 3 y 6 horas después de la inyección, pero que proteínas de fusión de FGF21 truncado que comprenden los residuos de aminoácido 9-181 no muestran tal actividad. Por tanto, el análisis *in vivo* de polipéptidos de FGF21 truncados indicó que la deleción de hasta 7 aminoácidos del extremo N-terminal de FGF21 maduro no suprime la actividad biológica de la molécula (en contraposición con el análisis *in vivo*, lo que sugirió que la deleción de 7 aminoácidos del extremo N-terminal de FGF21 maduro suprimiría la actividad).

Los resultados diferentes obtenidos con polipéptidos de FGF21 truncados de manera N-terminal particulares (por ejemplo, FGF21 8-181) en ensayos *in vitro* e *in vivo* pueden explicarse mediante la interacción de FGF21 con β-Klotho y el receptor de FGF en la realización de la transducción de señales. En particular, FGF21 activa un complejo de receptor dual que comprende el correceptor β-Klotho y el receptor de FGF (FGFR), lo que inicia una cascada de señalización en la que participa tirosina cinasa. Se ha mostrado que el extremo N-terminal de FGF21 participa en la unión y activación de FGFR mientras que se requiere el extremo C-terminal de FGF21 para la interacción con β-Klotho (Yie *et al.*, 2009 FEBS Lett. 583: 19-24). Se realiza el ensayo *in vitro* de ELK-luciferasa en células de riñón 293 en las que se sobreexpresa el correceptor β-Klotho y se expresa FGFR a niveles normales. La cantidad de FGFR es baja en relación con la de β-Klotho y, por tanto, la razón de β-Klotho con respecto a FGFR en células 293 es no fisiológica, lo que puede afectar a la formación del complejo de receptor y en última instancia, a la unión a

ligandos y la activación de FGFR. El sistema *in vitro* de células 293 parece ser más vulnerable a polipéptidos de FGF21 truncados de manera N-terminal y, por tanto, puede haber producido resultados de pérdida de actividad para unos cuantos de los mutantes truncados de manera N-terminal sometidos a prueba, tales como FGF21 8-181. Por tanto, en la determinación de si un mutante de FGF21 truncado de manera N-terminal particular conservó la actividad de FGF21 silvestre, se consideró que la actividad de ese mutante de FGF21 en el ensayo *in vivo* era decisiva. Por consiguiente, polipéptidos de FGF21 truncados que tienen truncamientos N-terminales de menos de 8 residuos de aminoácido están englobados por la invención.

Ejemplo 6

Preparación y expresión de proteínas de fusión de FGF21 truncado

Dado que puede aumentarse la semivida de una proteína fusionando la proteína a una secuencia de Fc, se prepararon y analizaron proteínas de fusión que comprendían polipéptidos de FGF21 truncados. Se prepararon las proteínas de fusión de FGF21 truncado enumeradas en la tabla 6 a partir de secuencias de FGF21 amplificadas mediante PCR de SOE (corte y empalme de genes mediante extensión por solapamiento). Se prepararon proteínas de fusión de FGF21 de tal manera que se fusionó la parte de Fc del gen de la inmunoglobulina humana IgG1 (SEQ ID NO: 11) o bien con el extremo N-terminal o bien con el extremo C-terminal de la proteína FGF21.

Tabla 6

Proteínas de fusión de FGF21 truncado

Residuos de aminoácido	Posición de Fc	Ligador
Truncamientos en el extremo C-terminal		
1-178	$-NH_2$	15
1-175	$-NH_2$	14
1-175	-COOH	15
1-171	$-NH_2$	15
1-171	-COOH	15
1-170	-COOH	15
Truncamientos en el extremo N-terminal		
5-181	$-NH_2$	15
5-181	-COOH	15
7-181	$-NH_2$	15
7-181	-COOH	15
Truncamientos en el extremo C- y N-terminal		
5-175	$-NH_2$	15
5-175	-COOH	15
5-171	$-NH_2$	15
5-171	-COOH	15
6-170	-COOH	15
7-178	-COOH	35
7-175	$-NH_2$	15
7-175	-COOH	15
7-174	-COOH	35
7-172	-COOH	35
7-171	$-NH_2$	15
7-171	-COOH	35
7-171	-COOH	15

En particular, se prepararon constructos de proteína de fusión de FGF21 (incluyendo los que codifican para proteínas de fusión de FGF21 truncado) en una serie de tres reacciones de amplificación usando esencialmente las condiciones de reacción descritas en el ejemplo 1. En la primera reacción, se diseñó un par de cebadores para producir una secuencia que contenía un sitio de clonación NdeI (que incluye una metionina N-terminal para la expresión bacteriana), una región Fc y una secuencia de ligador. En la segunda reacción, se diseñó un par de cebadores para producir una secuencia que contenía una parte solapante del ligador, una parte de la secuencia codificante de FGF21 y un sitio de clonación EcoRI. Finalmente, en la tercera reacción, se diseñó un par de cebadores con el fin de ligar los productos de las primeras dos reacciones. Se enumera un conjunto de cebadores a modo de ejemplo para la construcción de Fc-FGF21 1-181 en la tabla 7.

Tabla 7

Cebadores de PCR para preparar constructo de proteína de fusión de FGF21 a modo de ejemplo

Cebador	Secuencia	SED ID

		NO:
Reacción 1		
Sentido	5'-AGGAGGAATAACATATGGACAAAACTCACACATG-3'	19
Antisentido	5'-GGATCCACCACCACCGCTACCAC-3'	20
Reacción 2		
Sentido	5'-GGTGGTGGTGGATCCCATCCAATTCCAGATTCTTCTCCA-3'	21
Antisentido	5'-TAGTGAGCTCGAATTCTTAGGAAGCGTAGCTGG-3'	22
Reacción 3		
Sentido	5'-AGGAGGAATAACATATGGACAAAACTCACACATG-3'	19
Antisentido	5'-TAGTGAGCTCGAATTCTTAGGAAGCGTAGCTGG-3'	22

Se digirió el producto de la reacción final con las endonucleasas de restricción NdeI y EcoRI, se ligó en el vector pET30, y luego se transformó en células competentes. Se secuenciaron los clones resultantes para confirmar la ausencia de errores generados por la polimerasa.

Ejemplo 7

Actividad *in vivo* de proteínas de fusión de FGF21 truncado

Se generaron proteínas de fusión que comprendían una secuencia de FGF21 truncado fusionada con una secuencia de Fc y se sometieron a ensayo para determinar la actividad *in vivo*. Se prepararon proteínas de fusión de FGF21 truncado fusionando una molécula de Fc de IgG1 o bien al extremo N-terminal o bien al extremo C-terminal de una proteína FGF21 truncada para formar una única secuencia contigua. Para distinguir entre fusiones N-terminales y C-terminales, las proteínas de fusión de FGF21 en las que se fusionó la molécula de Fc con el extremo N-terminal de la proteína FGF21 se designan como Fc-FGF21, y las proteínas de fusión en las que se fusionó la molécula de Fc con el extremo C-terminal de la proteína FGF21 se designan como FGF21-Fc.

FGF21 presenta varias actividades biológicas, incluyendo la capacidad para disminuir los niveles de glucemia, insulina, triglicéridos o colesterol; reducir el peso corporal; o mejorar la tolerancia a la glucosa, el gasto de energía o la sensibilidad a la insulina. Para evaluar *in vivo* la actividad de FGF21, se introdujeron polipéptidos de FGF21, polipéptidos mutantes de FGF21 y polipéptidos de fusión de FGF21 en ratones ob/ob con resistencia a insulina y se midió la capacidad de una proteína FGF21 particular para disminuir los niveles de glucemia. Se inyectó el polipéptido de FGF21, el polipéptido mutante de FGF21 o polipéptido de fusión de FGF21 que iba a someterse a prueba por vía intraperitoneal a ratones ob/ob de 8 semanas de edad (Jackson Laboratory), y se extrajeron muestras de sangre en diversos puntos de tiempo tras una única inyección, por ejemplo, 0, 6, 24, 72, 120 y 168 horas después de la inyección. Se midieron los niveles de glucemia con un glucómetro OneTouch (LifeScan, Inc. Milpitas, CA), y se expresaron los resultados como un porcentaje de cambio de la glucemia en relación con el nivel inicial de glucemia (es decir, a tiempo 0).

Se proporcionan los resultados de un experimento en la figura 4, que muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucemia observados en ratones a los que se les inyectó un control de PBS, un control de Fc-FGF21 silvestre que comprende los residuos de aminoácido 1-181 o proteínas de fusión de Fc-FGF21 truncado que comprenden los residuos de aminoácido 5-181 o 7-181. Este experimento demostró que proteínas de fusión de Fc-FGF21 truncado que comprenden los residuos de aminoácido 5-181 o 7-181 muestran actividad hipoglucemiante que es similar a la actividad de Fc-FGF21 silvestre 6 horas después de la inyección. Por tanto, el análisis *in vivo* de polipéptidos de FGF21 truncados indicó que la deleción de hasta 6 aminoácidos del extremo N-terminal de FGF21 maduro no afecta a la actividad biológica de la molécula. Sin embargo, el análisis *in vivo* también indicó que se redujo la capacidad de polipéptidos de FGF21 truncados para disminuir la glucemia y que los niveles de glucemia volvieron al nivel inicial 24 horas después de la inyección (se obtuvieron resultados similares con FGF21 silvestre). Se encontró que la corta actividad *in vivo* era el resultado de la degradación proteolítica de FGF21, tal como se describe en el ejemplo 8.

Se proporcionan los resultados de otro experimento en la figura 5, que muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucemia observados en ratones a los que se les inyectó un control de PBS, un control de FGF21-Fc silvestre que comprende los residuos de aminoácido 1-181, una proteína de fusión de FGF21-Fc truncado que comprende los residuos 1-175, o una proteína de Fc-FGF21 truncado que comprende los residuos de aminoácido 1-171. Este experimento demuestra que FGF21-Fc silvestre que comprende los residuos de aminoácido 1-181 tiene una actividad hipoglucemiante sostenida dando como resultado una reducción de los niveles de glucemia de aproximadamente el 30% a lo largo del periodo de tiempo de 24 horas a 120 horas tras la inyección. La proteína de Fc-FGF21 truncado que comprende los residuos de aminoácido 1-171 muestra actividad hipoglucemiante retardada evidente solo 72 horas después de la inyección. Sin embargo, la actividad observada es la misma que la actividad de FGF21-Fc silvestre. La proteína de fusión de FGF21-Fc truncado que comprende los residuos 1-175 no es activa *in vivo* en la disminución de la glucemia.

Colectivamente, los experimentos de truncamiento descritos en el presente documento demuestran que las proteínas de fusión de FGF21 truncado que tienen un truncamiento N-terminal muestran actividad hipoglucemiante que es similar a la de la proteína de fusión de FGF21 silvestre, y además, que las proteínas de fusión de FGF21 truncado en las que la molécula de Fc se ha fusionado con el extremo N-terminal de la proteína de FGF21 truncado

muestran más actividad que las proteínas de fusión en las que la molécula de Fc se ha fusionado con el extremo C-terminal de la proteína de FGF21 truncado.

Ejemplo 8

Degradación *in vivo* observada de FGF21

Se observó por primera vez degradación de FGF21 con constructos de proteína de fusión de FGF21-Fc tal como se describe en el ejemplo 7. El análisis farmacocinético *in vivo* indicó que FGF21 humano tiene una corta semivida de aproximadamente 1 hora en ratones debido a un rápido aclaramiento y degradación *in vivo*. Por tanto, para ampliar la semivida de FGF21 se fusionó una secuencia de Fc con el extremo N- o C-terminal del polipéptido de FGF21. Sin embargo, la fusión de una región Fc no resolvió por completo el problema de la semivida puesto que las proteínas de fusión en las que se fusionó una secuencia de Fc con el extremo N- o C-terminal del polipéptido de FGF21 (y en particular proteínas de fusión de Fc-FGF21, es decir, en las que se fusiona la secuencia de Fc con el extremo N-terminal de FGF21 maduro), no mostraron la eficacia *in vivo* esperada, y se encontró en su lugar que mantienen la actividad hipoglucemiante durante no más de 24 horas en ratones ob/ob. Tal como se describe en la figura 4, proteínas de fusión de Fc-FGF21 redujeron los niveles de glucemia en aproximadamente el 30-40% 6 horas después de la inyección, mientras que los niveles de glucemia volvieron a los niveles iniciales a las 24 horas.

Se investigó posteriormente la degradación proteolítica de FGF21 silvestre, y se encontró que la rápida pérdida de actividad *in vivo* con proteínas de fusión de Fc-FGF21 era el resultado de degradación *in vivo* de FGF21. La degradación proteolítica conduce a una disminución de la actividad biológica de la molécula *in vivo* y, por tanto, a una semivida eficaz más corta, y tal degradación tiene un impacto adverso sobre el uso terapéutico de esa molécula. Por consiguiente, la degradación observada de proteínas de fusión de FGF21-Fc condujo a la investigación de la degradación proteolítica de FGF21 *in vivo* y a la identificación de mutantes de FGF21 que fuesen resistentes a tal degradación.

Para determinar los sitios de degradación, se realizó un análisis de CL-EM y secuenciación de Edman con FGF21 humano silvestre y proteínas de fusión de FGF21-Fc obtenidas en diversos puntos de tiempo después de la inyección en ratones C57B6 macho. La secuenciación de Edman ayudó a confirmar si el extremo N-terminal o C-terminal de la proteína estaba experimentando degradación. Cuando se fusionó una secuencia de Fc con el extremo N-terminal de FGF21 humano, se encontró que se producía degradación en el enlace peptídico entre los residuos de aminoácido 151 y 152 y entre los residuos de aminoácido 171 y 172 de la parte de FGF21 humano de la molécula de fusión (la numeración de residuos anterior se basa en la secuencia de FGF21 maduro y no incluye la parte de Fc de la proteína de fusión). Se encontró que la degradación en 171-172 se producía en primer lugar, y estaba seguida por degradación en 151-152. La degradación en 171-172 parece ser la etapa limitante de la velocidad y desempeña un papel en la semivida de la molécula. Cuando se fusionó una secuencia de Fc con el extremo C-terminal de FGF21, se encontró que se producía degradación en el enlace peptídico entre los residuos de aminoácido 4 y 5 y entre los residuos de aminoácido 20 y 21. Como resultado de estos experimentos, se determinó que la secuencia de Fc parece proteger la parte de la secuencia de FGF21 que es adyacente a la secuencia de Fc frente a la degradación. Se llevó a cabo además un análisis de la degradación *in vivo* de FGF21 silvestre y proteínas de fusión de Fc-FGF21 en macacos cangrejeros. Estos estudios confirmaron que el sitio de escisión de FGF21 en los residuos de aminoácido 171-172 es el principal sitio de degradación en monos y que este sitio de degradación se conserva entre animales murinos y primates.

Ejemplo 9

Identificación de mutantes de FGF21 resistentes a la proteólisis

Se identificaron mutantes de FGF21 adecuados determinando experimentalmente las posiciones de la secuencia de FGF21 silvestre que son sitios de actividad proteolítica importante, y se introdujeron sustituciones de aminoácidos específicas en estos sitios. Sustituciones de aminoácidos se basaron en la conservación de la secuencia de FGF21 con otras especies (tal como se describe en el ejemplo 8) y la conservación bioquímica con otros residuos de aminoácido. Se proporciona una lista de sustituciones de aminoácidos que se introdujeron o pueden introducirse en la proteína FGF21 silvestre en la tabla 8, aunque la tabla 8 es solo a modo de ejemplo y pueden realizarse otras sustituciones. Los números de las posiciones facilitadas en la tabla 8 corresponden a la posición del residuo en la proteína FGF21 madura, que consiste en 181 residuos de aminoácido.

Tabla 8

Residuos de FGF21 mutados

Posición de aminoácido	Residuo nativo	Mutaciones
19	Arg	Gln, Ile, Lys
20	Tyr	His, Leu, Phe
21	Leu	Ile, Phe, Tyr, Val
22	Tyr	Ile, Phe, Val
150	Pro	Ala, Arg

151	Gly	Ala, Val
152	Ile	His, Leu, Phe, Val
170	Gly	Ala, Asn, Asp, Cys, Gln, Glu, Pro, Ser
171	Pro	Ala, Arg, Asn, Asp, Cys, Glu, Gln, Gly, His, Lys, Ser, Thr, Trp, Tyr
172	Ser	Leu, Thr
173	Gln	Arg, Glu

Ejemplo 10

Análisis *in vivo* de la degradación de Fc-FGF21 y FGF21-Fc

Se determinó la estabilidad de proteínas de fusión de FGF21-Fc *in vivo* inyectando a ratones una proteína de fusión, extrayendo sangre de los ratones en diversos puntos de tiempo, y analizando el suero mediante cromatografía de líquidos-espectrometría de masas (CL-EM). En particular, se les inyectó a ratones por vía intraperitoneal 10 mg/kg de Fc-(G5)-FGF21 (SEQ ID NO: 107) (expresado en *E. coli* y purificado tal como se describe en el ejemplo 2) o FGF21-(G3)-Fc (SEQ ID NO: 105) (expresado en células de mamífero y purificado según procedimientos convencionales). Se extrajo sangre de los ratones 6, 24 y 48 horas después de la inyección (tabla 9) y se recogió en tubos con EDTA pretratados con cócteles de inhibidores de proteasas (Roche Diagnostics). Se separó el plasma mediante la centrifugación de las muestras a 12.000xg durante 10 minutos. Se purificaron por afinidad las proteínas FGF21 de la sangre usando una resina de anticuerpo anti-Fc humano-agarosa.

Tabla 9

Muestras de FGF21

Muestra	Proteína administrada	Extracción de sangre
D6	Fc-(G5)-FGF21	6 horas
D24	Fc-(G5)-FGF21	24 horas
D48	Fc-(G5)-FGF21	48 horas
E6	FGF21-(G3)-Fc	6 horas
E24	FGF21-(G3)-Fc	24 horas
E48	FGF21-(G3)-Fc	48 horas

Antes de analizar las muestras purificadas por afinidad, mediante CL-EM, se analizaron patrones proteicos de Fc-(G5)-FGF21 y FGF21-(G3)-Fc como referencia. Los patrones proteicos o bien se redujeron con tris[2-carboxietil]fosfina (TCEP) o bien no se redujeron. Se analizaron patrones reducidos y no reducidos mediante CL-EM usando una columna de ciano de 0,3 mm x 30 cm de ACE, pulverizándose el efluente de columna en un espectrómetro de masas de trampa iónica LCQ Classic. Puesto que los espectros deconvolucionados de las muestras reducidas estaban más limpios, se redujeron las muestras purificadas por afinidad antes del análisis de CL-EM.

Se muestran las masas observadas para el patrón de Fc-(G5)-FGF21 reducido y las muestras D6, D24 y D48 en las figuras 6A-6D. Se muestran las masas observadas para el patrón de FGF21-(G3)-Fc reducido y las muestras E6, E24 y E48 en las figuras 7A-7D. Se sometieron algunos de los eluatos de patrón y muestra a secuenciación de Edman para confirmar el extremo N-terminal de las proteínas y los fragmentos determinados mediante CL-EM. Se proporcionan los resultados del análisis de CL-EM de los patrones y muestras en la tabla 10.

Tabla 10

Resultados del análisis de CL-EM y fragmentos predichos

Muestra de FGF21	Masas observadas principales	Fragmento	¿Extremo N-terminal intacto?
Patrón de Fc-(G5)-FGF21	45.339 Da	1-414	Sí
D6	45.338 Da 44.317 Da	1-414 1-404	Sí
D24	44.321 Da	1-404	Sí
D48	44.327 Da 42.356 Da	1-404 ¿?	Sí
Patrón de FGF21-(G3)-Fc	46.408 Da (glicosilado, G0F) 44.964 Da (no glicosilado)	1-410 1-410	Sí
E6	45.963 Da (glicosilado, G0F) 44.516 Da (no glicosilado)	5-410 5-410	No
E24	45.963 Da (glicosilado, G0F)	5-410	No

	44.526 Da (no glicosilado) 44.130 Da (glicosilado, G0F)	5-410 21-410	
E48	45.984 Da 44.130 Da 44.022 Da	¿5-410? 21-410 ¿?	No

Tal como se indica en la tabla 10, todas las muestras purificadas por afinidad mostraron cierto grado de degradación después de solo 6 horas de circulación. Después de 24 horas de circulación, el producto principal de Fc-(G5)-FGF21 fue un fragmento que consiste en los residuos de aminoácido 1-404, que se observó en tanto en las muestras D como en las E. En las muestras E, sin embargo, el producto principal de FGF21-(G3)-Fc fue un fragmento que consiste en los residuos de aminoácido 5-410. Para ambas proteínas de fusión sometidas a prueba, la parte de FGF21 de la proteína de fusión era más susceptible a degradación que la parte de Fc de la proteína.

Ejemplo 11

Preparación y expresión de proteínas de fusión y mutantes de FGF21 resistentes a la proteólisis

Se prepararon constructos que codifican para los mutantes de FGF21 enumerados en la tabla 11 mediante amplificación por PCR del vector de expresión de FGF21 silvestre tal como se describe a continuación (la construcción del vector de expresión de FGF21 silvestre se describe en el ejemplo 1). Cuando se incluyó un ligador en el constructo, el ligador usado fue GGGGGSGGGSGGGGS (“L15”, SEQ ID NO: 28). El objetivo de estos experimentos era generar mutantes de FGF21 que son resistentes a la proteólisis y muestran semividas más largas.

Tabla 11

Mutantes de FGF21 resistentes a la proteólisis

Mutación/mutaciones	Fc	Ligador
R19I		
R19I	-COOH	L15
R19K		
R19K	-COOH	L15
R19Q		
R19Q	-COOH	L15
R19K, Y20H		
R19K, Y20H	-COOH	L15
R19K, L21I		
R19K, L21I	-COOH	L15
R19K, Y20H, L21I		
R19K, Y20H, L21I	-COOH	L15
Y20F		
Y20F	-COOH	L15
Y20H		
Y20H	-COOH	L15
Y20L		
Y20L	-COOH	L15
Y20H, L21I		
Y20H, L21I	-COOH	L15
L21I		
L21I	-COOH	L15
L21F		
L21F	-COOH	L15
L21V		
L21V	-COOH	L15
L21Y		
L21Y	-COOH	L15
Y22F		
Y22F	-COOH	L15
Y22I		
Y22I	-COOH	L15
Y22V		
Y22V	-COOH	L15
P150A		
P150A	$-NH_2$	L15
P150R	$-NH_2$	L15

P150A, G151A		
P150A, G151A	-NH_2	L15
P150A, I152V		
P150A, I152V	-NH_2	L15
P150A, G151A, I152V		
P150A, G151A, I152V	-NH_2	L15
G151A		
G151A	-NH_2	L15
G151V		
G151V	-NH_2	L15
G151A, I152V		
G151A, I152V	-NH_2	L15
I152F		
I152F	-NH_2	L15
I152H		
I152H	-NH_2	L15
I152L		
I152L	-NH_2	L15
I152V		
G170A		
G170A	-NH_2	L15
G170C		
G170C	-NH_2	L15
G170D		
G170D	-NH_2	L15
G170E		
G170E	-NH_2	L15
G170N		
G170N	-NH_2	L15
G170P		
G170P	-NH_2	L15
G170Q		
G170Q	-NH_2	L15
G170S		
G170S	-NH_2	L15
G170E, P171A		
G170E, P171A	-NH_2	L15
G170E, S172L		
G170E, S172L	-NH_2	L15
G170E, P171A, S172L		
G170E, P171A, S172L	-NH_2	L15
P171A		
P171A	-NH_2	L15
P171C	-NH_2	L15
P171D	-NH_2	L15
P171E	-NH_2	L15
P171G	-NH_2	L15
P171H	-NH_2	L15
P171K	-NH_2	L15
P171N	-NH_2	L15
P171Q	-NH_2	L15
P171S	-NH_2	L15
P171T	-NH_2	L15
P171W	-NH_2	L15
P171Y	-NH_2	L15
P171A, S172L		
P171A, S172L	-NH_2	L15
S172L	-NH_2	L15
S172T		
S172T	-NH_2	L15
Q173E		
Q173E	-NH_2	L15
Q173R		

Q173R	-NH_2	L15

Se prepararon constructos mutantes de FGF21 usando cebadores que tienen secuencias que son homólogas a regiones en el sentido de 3' y en el sentido de 5' de un codón (o codones) que va a mutarse. Los cebadores usados en tales reacciones de amplificación también proporcionaron aproximadamente 15 nucleótidos de secuencia solapante para permitir la recircularización del producto amplificado, concretamente todo el vector que tiene ahora el mutante deseado.

Se preparó un constructo mutante de FGF21 a modo de ejemplo, que codifica para un mutante de FGF21 que tiene un residuo de ácido glutámico en la posición 170 en vez del residuo de glicina nativo (es decir, el mutante G170E), usando los cebadores mostrados en la tabla 12.

Tabla 12

Cebadores de PCR para preparar mutante de FGF21 a modo de ejemplo

Cebador	Secuencia	SEQ ID NO:
Sentido	5'-ATGGTGGAACCTTCCCAGGGCCGAAGC-3'	23
Antisentido	5'-GGAAGGTTCCACCATGCTCAGAGGGTCCGA-3'	24

Los cebadores mostrados en la tabla 12 permiten la sustitución del residuo de glicina por un residuo de ácido glutámico tal como se muestra a continuación, en la que la secuencia superior es el cebador sentido (SEQ ID NO:23), las secuencias segunda y tercera (SEQ ID NO: 25 y 27) son partes de un constructo de expresión de FGF21, y la cuarta secuencia es el cebador antisentido (SEQ ID NO:26):

5'-ATGGTGG**A**ACCTTCCCAGGGCCGAAGC

CTCCTCGGACCCTCTGAGCATGGTG**GGA**CCTTCCCAGGGCCGAAGCCCCA

GAGGAGCCTGGGAGACTCGTACCAC**CCT**GGAAGGGTCCCGGCTTCGGGGT

AGCCTGGGAGACTCGTACCACC**T**TGGAAGG-5'

Se prepararon constructos mutantes de FGF21 usando esencialmente las condiciones de PCR descritas en el ejemplo 1. Se digirieron los productos de amplificación con la endonucleasa de restricción DpnI, y luego se transformaron en células competentes. Se secuenciaron los clones resultantes para confirmar la ausencia de errores generados por la polimerasa. Se generaron las proteínas de fusión Fc-(L15)-FGF21 y FGF21-(L15)-Fc tal como se describe en el presente documento, por ejemplo, en el ejemplo 6.

Se expresaron mutantes de FGF21 transformando células competentes BL21 (DE3) o BL21 Star (Invitrogen; Carlsbad, CA) con el constructo que codifica para un mutante particular. Se hicieron crecer los transformantes durante la noche con aireación limitada en medios TB complementados con kanamicina 40 μg/ml, se airearon a la mañana siguiente, y después de un corto periodo de recuperación, se indujeron en IPTG 0,4 mM. Se recogieron los polipéptidos mutantes de FGF21 mediante centrifugación 18-20 horas después de la inducción.

También se analizaron los mutantes de FGF21 para determinar la inmunogenicidad predicha. Se potencian las respuestas inmunitarias frente a proteínas mediante procesamiento antigénico y presentación en el sitio de unión del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) de clase II. Se requiere esta interacción para que las células T ayuden en la maduración de anticuerpos que reconocen la proteína. Puesto que se han caracterizado los sitios de unión de las moléculas de CMH de clase II, es posible predecir si las proteínas tienen secuencias específicas que pueden unirse a una serie de alelos humanos comunes. Se han creado algoritmos informáticos basándose en referencias bibliográficas y las estructuras cristalinas de CMH de clase II para determinar si secuencias peptídicas de aminoácidos lineales tienen el potencial de suprimir la tolerancia inmunitaria. Se usó el programa informático TEPITOPE para determinar si mutaciones puntuales, en particular mutantes de FGF21, aumentarían las células T específicas de antígeno en la mayoría de seres humanos. Basándose en un análisis de la secuencia de proteína lineal de cada mutante de FGF21, no se predijo que ninguno de los mutantes potenciase la inmunogenicidad.

Ejemplo 12

Impacto de la secuencia de ligador sobre la degradación de FGF21

Para determinar si la presencia de un ligador de aminoácidos más largo entre la secuencia de Fc y la secuencia de FGF21 afecta a la degradación de FGF21, se les inyectaron a ratones proteínas de fusión de FGF21 en las que la región Fc estaba separada de la secuencia de FGF21 por un ligador de 15 aminoácidos que tiene la secuencia GGGGGSGGGSGGGGS (designado como "L15", SEQ ID NO:28), se extrajo sangre de los ratones en diversos puntos de tiempo, y se analizó el suero mediante CL-EM. En particular, se les inyectó a los ratones Fc-(L15)-FGF21

o FGF21-(L15)-Fc (obtenidos a partir de *E. coli*) a 23 mg/kg, se extrajo sangre a las 6, 24 y 48 horas, y se purificó por afinidad la sangre extraída usando una resina de anticuerpo anti-Fc humano-agarosa.

Antes de analizar las muestras purificadas mediante CL-EM, se analizaron patrones proteicos de Fc-(L15)-FGF21 y FGF21-(L15)-Fc como referencia. Los patrones proteicos o bien se redujeron con TCEP o bien no se redujeron. Se analizaron patrones tanto reducidos como no reducidos mediante CL-EM usando una columna de ciano de 0,3 mm x 30 cm de ACE pulverizándose el efluente de columna en un espectrómetro de masas de trampa iónica LCQ Classic.

Puesto que los espectros deconvolucionados de las muestras reducidas estaban más limpios, se redujeron las muestras purificadas por afinidad antes del análisis de CL-EM.

Se muestran las masas observadas para el patrón de Fc-(L15)-FGF21 reducido y las muestras purificadas por afinidad correspondientes retiradas en diversos puntos de tiempo en las figuras 8A-8D. Se muestran las masas observadas para el patrón de FGF21-(L15)-Fc reducido y las muestras purificadas por afinidad correspondientes retiradas en diversos puntos de tiempo en las figuras 9A-9D. Se sometieron algunos de los eluatos de patrones y muestras a secuenciación de Edman para confirmar el extremo N-terminal de las proteínas y ayudar en la predicción de la identidad de los fragmentos observados mediante CL-EM. Se proporcionan los resultados del análisis de CL-EM de los patrones y las muestras y una indicación de los fragmentos predichos en la tabla 13.

Tabla 13

Resultados del análisis de CL-EM y fragmentos predichos

Muestra de FGF21	Masas observadas principales	Porcentaje del total	Fragmento	¿Extremo N-terminal intacto?
Patrón de Fc-(L15)-FGF21	46.002 Da	100%	1-424	Sí
Fc-(L15)-FGF21 6 horas	46.000 Da 44.978 Da	65% 35%	1-424 1-414	Sí
Fc-(L15)-FGF21 24 horas	44.978 Da 43.022 Da	85% 15%	1-414 1-394	Sí
Fc-(L15)-FGF21 48 horas	44.976 Da 43.019 Da	60% 40%	1-414 1-394	Sí
Patrón de FGF21-(L15)-Fc	45.999 Da	100%	1-424	Sí
FGF21-(L15)-Fc 6 horas	45.870 Da	100%	1-423	Sí
FGF21-(L15)-Fc 24 horas	45.869 Da 45.301 Da 43.460 Da	40% 35% 25%	1-423 6-423 22-423	En parte
FGF21-(L15)-Fc 48 horas	45.870 Da 45.297 Da 43.461 Da	15% 20% 65%	1-423 6-423 22-423	En parte

Tal como se indica en la tabla 13, todas las muestras purificadas por afinidad mostraron cierto grado de degradación después de solo 6 horas de circulación. Después de 24 horas de circulación, los productos principales de Fc-(L15)-FGF21 eran fragmentos que consistían en los residuos de aminoácido 1-414 (el 85% de la muestra) y 1-394 (el 15% de la muestra), y los productos principales de FGF21(15)Fc eran fragmentos que consisten en los residuos de aminoácido 1-423 (el 40% de la muestra), 6-423 (el 35% de la muestra), y 22-423 (el 25% de la muestra). Se muestran los puntos de escisión identificados para las proteínas Fc-(L15)-FGF21 y FGF21-(L15)-Fc en las figuras 10A y 10B, respectivamente.

Ejemplo 13

Actividad *in vivo* de mutantes Fc-(L15)-FGF21 resistentes a la proteólisis 1-7 días después de la inyección

Tal como se describe en el presente documento, la escisión proteolítica de proteínas de fusión de FGF21-Fc depende de la orientación de la secuencia de Fc, siendo el extremo de Fc de la proteína de fusión más estable que el extremo de FGF21 de la proteína de fusión (es decir, se encontró que la parte N-terminal de proteínas de fusión de Fc-(L15)-FGF21 y la parte C-terminal de proteínas de fusión de FGF21-(L15)-Fc eran más estables). Por ejemplo, se identificó escisión en las posiciones 5 y 21 de FGF21-(L15)Fc y las posiciones 151 y 171 de Fc-(L15)-FGF21.

Como resultado de estas observaciones, se realizó una investigación para identificar mutantes de FGF21 resistentes a la proteólisis. El análisis de CL-EM de Fc-(L15)-FGF21 demuestra que se produce en primer lugar degradación proteolítica *in vivo* entre los residuos de aminoácido 171-172, seguido por degradación entre los residuos de aminoácido 151-152. Bloqueando la degradación proteolítica en la posición 171, puede impedirse la escisión en la posición 151, ampliando eficazmente la semivida de la molécula. Sin embargo, los mutantes resistentes a la

proteólisis en los que se impide la escisión en la posición 151 todavía pueden presentar residuos en la posición 171 que son susceptibles de ataque por proteasas, dando como resultado de ese modo una molécula a la que le faltan los últimos 10 aminoácidos, que se sabe que participan en la unión del correceptor β-Klotho, que es un determinante de la afinidad del receptor por el ligando y la potencia *in vitro* e *in vivo*. Por tanto, la mutagénesis de residuos de aminoácido que rodean la posición 171 en FGF21 maduro parece ser más crítica para mejorar la estabilidad, potencia y eficacia *in vivo* de la molécula.

Se sometió a ensayo la actividad *in vivo* de mutantes Fc-(L15)-FGF21 resistentes a la proteólisis particulares inyectando por vía intraperitoneal a ratones ob/ob un mutante de FGF21, extrayendo muestras de sangre de los ratones a los que se les inyectó, 0, 0,25, 1, 3, 5 y 7 días después de la inyección, y luego midiendo los niveles de glucemia en las muestras. Se proporcionan los resultados de un experimento en la figura 11, que muestra los niveles de glucemia medidos en ratones a los que se les inyectó un control de PBS, un control de Fc-(L15)-FGF21 (SEQ ID NO:49) o los mutantes de Fc(L15)-FGF21, Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO:51), Fc-(L15)-FGF21 P171A (SEQ ID NO:53), Fc-(L15)-FGF21 S172L (SEQ ID NO:55), Fc-(L15)-FGF21 (G170E, P171A, S172L) (SEQ ID NO:59) o Fc-(L15)-FGF21 G151A (SEQ ID NO:61). La figura 12 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucemia tal como se determina en este experimento. Este experimento demuestra que los mutantes Fc-(L15)-FGF21 G170E, Fc-(L15)-FGF21 P171A, Fc-(L15)-FGF21 S172L y Fc-(L15)-FGF21 (G170E, P171A, S172L) muestran actividad hipoglucemiante sostenida durante hasta 5 días, que es superior a la actividad de Fc-(L15)-FGF21 silvestre. El mutante de Fc-(L15)-FGF21 G151A solo mejoró parcialmente la duración de la actividad hipoglucemiante en comparación con la proteína de fusión de Fc-(L15)-FGF21 silvestre. De manera sorprendente, aunque el mutante de Fc-(L15)-FGF21 S172L no es un mutante resistente a la proteólisis, y por tanto tiene un perfil de degradación similar al del polipéptido de Fc-(L15)-FGF21 silvestre, se encontró que este mutante muestra eficacia *in vivo* mejorada en comparación con el polipéptido de Fc-(L15)-FGF21 silvestre.

Se proporcionan los resultados de otro experimento en la figura 13, que muestra los niveles de glucemia medidos en ratones a los que se les inyectó un control de PBS, un control de Fc-(L15)-FGF21 o los mutantes de Fc(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21 (P150A, G151A, I152V) (SEQ ID NO:65), Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO:51), Fc-(L15)-FGF21 (G170E, P171A) (SEQ ID NO:63) o Fc-(L15)-FGF21 (G170E, S172L) (SEQ ID NO:67). La figura 14 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucemia tal como se determina en este experimento. Como en el experimento descrito anteriormente, la proteína de fusión de Fc-FGF21 silvestre y el mutante de Fc-(L15)-FGF21 (P150A, G151A, I152V) no muestran actividad hipoglucemiante sostenida, posiblemente debido a que todavía podría producirse degradación en el sitio 171, y los niveles de glucemia en los animales a los que se les inyectaron estas proteínas volvieron al nivel inicial 24 horas después de la inyección. Sin embargo, Fc-(L15)-FGF21 G170E, Fc-(L15)-FGF21 (G170E, P171A) o Fc-(L15)-FGF21 (G170E, S172L) muestran actividad hipoglucemiante máxima hasta 5 días después de la inyección, que es superior a la de la proteína de fusión de Fc-(L15)-FGF21 silvestre y el mutante de Fc-(L15)-FGF21 (P150A, G151A, I152V).

Se proporcionan los resultados de otro experimento en la figura 15, que muestra los niveles de glucemia medidos en ratones a los que se les inyectó un control de PBS o los mutantes de the Fc-(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO:51), Fc-(L15)-FGF21 G170A (SEQ ID NO:69), Fc-(L15)-FGF21 G170C (SEQ ID NO:71), Fc-(L15)-FGF21 G170D (SEQ ID NO:73), Fc-(L15)-FGF21 G170N (SEQ ID NO:75) o Fc-(L15)-FGF21 G170S (SEQ ID NO:77). La figura 16 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucemia tal como se determina en este experimento. Todos los mutantes de FGF21 sometidos a prueba en este experimento mostraron actividad hipoglucemiante sostenida durante hasta 5 días después de la inyección.

Se proporcionan los resultados de otro experimento en la figura 17, que muestra los niveles de glucemia medidos en ratones a los que se les inyectó PBS o los mutantes de Fc(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO:51), Fc-(L15)-FGF21 P171E (SEQ ID NO:79), Fc-(L15)-FGF21 P171H (SEQ ID NO:81), Fc-(L15)-FGF21 P171Q (SEQ ID NO:83), Fc-(L15)-FGF21 P171T (SEQ ID NO:85) o Fc-(L15)-FGF21 P171Y (SEQ ID NO:87). La figura 18 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucemia tal como se determina en este experimento. Todos los mutantes de FGF21 sometidos a prueba en este experimento mostraron actividad hipoglucemiante mejorada en comparación con Fc-FGF21 silvestre.

Ejemplo 14

Degradación *in vivo* de mutantes de Fc-(L15)-FGF21 resistentes a la proteólisis de 6 a 120 horas después de la inyección

Se analizó la estabilidad *in vivo* de mutantes de FGF21 seleccionados inyectando a ratones un mutante de FGF21, extrayendo sangre de los ratones en diversos puntos de tiempo, y analizando el suero mediante CL-EM. En particular, se les inyectó a los ratones cualquiera de los mutantes de Fc-(L15)-FGF21 G170E, Fc-(L15)-FGF21 P171A o Fc-(L15)-FGF21 S172L (obtenidos a partir de *E. coli* tal como se describe en el ejemplo 2), cada uno de los cuales se diluyó en aproximadamente 180 μl de HCl 10 mM antes de la inyección, y se extrajo sangre a las 6, 24, 48, 72 y 120 horas. Se purificaron por afinidad las proteínas FGF21 de la sangre extraída usando una columna de resina de anticuerpo anti-Fc humano-agarosa. Se eluyeron las muestras de la columna usando HCl 10 mM. Todos los constructos de FGF21 comprenden una región Fc y un ligador de 15 aminoácidos en el extremo amino-terminal de la proteína FGF21. A los ratones también se les inyectó un control de FGF21 silvestre.

Antes de analizar mediante CL-EM las muestras purificadas por afinidad, se analizaron FGF21 silvestre sin procesar y mutantes de FGF21 sin procesar como referencia. Se redujeron todos los patrones y muestras de punto de tiempo con TCEP, y luego se analizaron mediante CL-EM usando una columna de ciano de 0,3 mm x 30 cm de ACE pulverizándose el efluente de columna en un espectrómetro de masas de trampa iónica LCQ Classic. Se diluyeron las muestras purificadas por afinidad con acetato de amonio, se redujeron con TCEP, y luego se analizaron mediante CL-EM tal como se describió anteriormente.

Se muestran las masas observadas para Fc-(L15)-FGF21 silvestre 0, 6, 24 y 48 horas después de la inyección en las figuras 19A-19D, respectivamente. Se muestran las masas observadas para Fc-(L15)-FGF21 G170E 0, 6, 24 y 48 horas después de la inyección en las figuras 20A-20D, respectivamente. Se muestran las masas observadas para Fc-(L15)-FGF21 P171A 0, 6, 24 y 48 horas después de la inyección en las figuras 21A-21D, respectivamente. Se muestran las masas observadas para Fc-(L15)-FGF21 S172L 0, 6, 24 y 48 horas después de la inyección en las figuras 22A-22D, respectivamente.

Se encontró que todas las muestras extraídas a las 72 y 120 horas contenían un componente de alto peso molecular (>200 kDa mediante SDS-PAGE en condiciones no reductoras) de fibrinógeno que es mucho más abundante que la proteína de fusión de Fc-(L15)-FGF21 restante. Se proporcionan los resultados del análisis de CL-EM de los otros patrones y muestras en la tabla 14.

Tabla 14

Resultados del análisis de CL-EM y fragmentos predichos

Muestra de FGF21	Masas observadas principales	Porcentaje del total	Fragmento	Edman
Patrón de Fc-(L15)-FGF21 WT	45.994 Da	100%	1-424	-
Fc-(L15)-FGF21 WT 6 horas	46.001 Da 44.987 Da	80% 20%	1-424 1-414	No
Fc-(L15)-FGF21 WT 24 horas	44.979 Da	~100%	1-414	No
Fc-(L15)-FGF21 WT 48 horas	44.980 Da	~100%	1-414	-
Patrón de Fc-FGF21-(L15) G170E	46.068 Da	100%	1-424	-
Fc-FGF21-(L15) G170E 6 horas	46.078 Da	100%	1-424	No
Fc-FGF21-(L15) G170E 24 horas	46.074 Da 45.761 Da	80% 20%	1-424 1-421	No
Fc-FGF21-(L15) G170E 48 horas	46.072 Da 45.760 Da	~60% ~40%	1-424 1-421	No
Patrón de Fc-FGF21-(L15) P171A	45.970 Da	100%	1-424	-
Fc-FGF21-(L15) P171A 6 horas	45.980 Da	100%	1-424	No
Fc-FGF21-(L15) P171A 24 horas	45.973 Da 45.657 Da	~70% ~30%	1-424 1-421	No
Fc-FGF21-(L15) P171A 48 horas	45.992 Da 45.673 Da	~50% ~50%	1-424 1-421	No
Patrón de Fc-(L15)-FGF21 S172L	46.022 Da	100%	1-424	-
FGF21-(L15)-Fc S172L 6 horas	46.027 Da	100%	1-424	No
Fc-(L15)-FGF21 S172L 24 horas	44.984 Da	100%	1-414	No
Fc-(L15)-FGF21 S172L 48 horas	44.985 Da	100%	1-414	No

Tal como se indica en la tabla 14, la degradación de Fc-(L15)-FGF21 silvestre y el mutante S172L parecen similares, porque después de 24 horas de circulación, el producto principal de la proteína de fusión era un fragmento que consistía en los residuos de aminoácido 1-414. Los productos de degradación de los mutantes de Fc-(L15)-FGF21 G170E y Fc-(L15)-FGF21 P171A también parecen similares porque las muestras extraídas después de 24 horas de circulación contienen el 70-80% de proteína intacta (aminoácidos 1-424) y el 20-30% de un fragmento que consiste en los residuos de aminoácido 1-421. Incluso después de 48 horas, los mutantes de Fc-(L15)-FGF21 G170E y Fc-(L15)-FGF21 P171A conservan todavía proteína intacta mientras que muestran un aumento de la cantidad del

fragmento que consiste en los residuos de aminoácido 1-421. Tal como se observó en análisis previos de constructos de Fc-FGF21, se detectó degradación de la parte de FGF21 de la proteína de fusión y se encontró que la parte de Fc seguía siendo estable. Se muestran los sitios de escisión identificados para proteína silvestre, Fc-(L15)-FGF21 G170E, Fc-(L15)-FGF21 P171A y Fc-(L15)-FGF21 S172L en las figuras 23A-23D, respectivamente.

Ejemplo 15

Identificación de mutantes de FGF21 de reducción de la agregación

Una propiedad de FGF21 silvestre es su propensión a agregarse. En vista de esta propiedad, se deseaba generar mutantes de FGF21 de reducción de la agregación. Se identificaron los mutantes de FGF21 de reducción de la agregación basándose en dos hipótesis. La primera hipótesis es que, con respecto a FGF21, se desencadena la agregación (o dimerización) mediante interacciones hidrófobas e interacciones de van der Waals entre moléculas de FGF21 provocadas por residuos hidrófobos que están expuestos a un entorno de disolvente de base acuosa hidrófilo. La segunda hipótesis es que estos residuos hidrófobos expuestos pueden sustituirse para crear mutaciones puntuales de reducción de la agregación en la secuencia de aminoácidos de FGF21 sin comprometer la actividad de FGF21.

Se usó un enfoque de ingeniería de proteínas racional y sistemático para identificar residuos hidrófobos expuestos en FGF21. Como no había ninguna estructura de rayos X o RMN de FGF21 conocida que pudiera usarse para identificar residuos hidrófobos expuestos, se usó una estructura cristalina de rayos X de alta resolución (1,3 Å) de FGF19 (1PWA) obtenida a partir del banco de datos de proteínas (PDB) para crear un modelo de homología 3D de FGF21 usando el software de modelado MOE (Molecular Operating Environment, entorno operativo molecular; Chemical Computing Group; Montreal, Quebec, Canadá). Se eligió FGF19 como molde, puesto que entre las proteínas depositadas en la PDB, FGF19 es la proteína más estrechamente relacionada con FGF21 en cuanto a la homología de la secuencia de aminoácidos.

Se calculó la accesibilidad del disolvente mediante el siguiente método usando MOE. Una primera medida del área superficial (SA1) se define como el área de la superficie accesible del residuo en $Å^2$. Aunque un residuo de aminoácido particular aparece en la secuencia primaria de una proteína múltiples veces, cada aparición del residuo puede tener un área superficial diferente debido a diferencias, entre otras cosas, en la proximidad del residuo a la superficie de la proteína, la orientación de la cadena lateral del residuo y la posición espacial de residuos de aminoácido adyacentes. Por tanto, se realiza una segunda medida del área superficial (SA2) en la que el residuo de interés se extrae de la estructura de la proteína junto con los residuos vecinos, o adyacentes, de ese residuo. Estos residuos adyacentes espacialmente se mutan *in silico* a glicinas para eliminar sus cadenas laterales, y luego se calcula la SA2 para el residuo de interés, proporcionando una medida del área superficial posible total para ese residuo en su conformación particular. Luego, una razón de SA1 con respecto a SA2 (SA1/SA2) puede proporcionar una medida del porcentaje del área superficial posible para ese residuo que está expuesto realmente.

Se seleccionaron varios residuos hidrófobos que están altamente expuestos al disolvente para análisis adicional, y se realizaron mutaciones puntuales *in silico* a estos residuos para reemplazar el residuo seleccionado por los demás residuos de aminoácido que se producen de manera natural. Se calcularon los cambios en la estabilidad térmica de la proteína que resultaba de diferentes sustituciones usando el modelo de FGF21 y el programa en línea interactivo CUPSAT (Cologne University Protein Stability Analysis Tools, herramientas de análisis de estabilidad de proteínas de la Universidad de Colonia) según las instrucciones proporcionadas en el sitio web de CUPSAT. Véanse Parthiban *et al.*, 2006, Nucleic Acids Res. 34: W239-42; Parthiban *et al.*, 2007, BMC Struct. Biol. 7:54. Se excluyeron mutaciones significativamente desestabilizantes o hidrófobas en el diseño de los mutantes de FGF21 con mutaciones puntuales de reducción de la agregación. Se consideraron sustituciones estabilizantes (o, en casos raros, ligeramente desestabilizantes) que introducen características hidrófilas y/o iónicas mejoradas como candidatos a mutantes de FGF21 de reducción de la agregación.

Se proporciona un resumen de los datos generados a través de este enfoque de ingeniería de proteínas racional en la tabla 15, que también enumera a modo de ejemplo mutantes de FGF21 que se espera que tengan agregación proteica reducida y estabilidad mejorada.

Tabla 15

Efecto calculado de mutantes de FGF21 sobre la estabilidad

N.º de residuo	Residuo WT	Mutación	Estabilización (Kcal/mol)
26	A	K	1,25
		E	1,54
		R	2,016

45	A	T	0,66
		Q	0,71
		K	1,8
		E	2,34
		R	1,59
52	L	T	-0,33
58	L	G	0,16
		S	-0,15
		C	1,0
		E	0,08
60	P	A	1,3
		K	1,51
		E	0,66
		R	1,31
78	P	A	0,14
		C	2,48
		R	0,08
		H	0,13
86	L	T	0,18
		C	4,1
88	F	A	2,52
		S	3,08
		K	2,88
		E	1,48
98	L	T	0,49
		Q	0,17
		K	-0,19
		C	3,08
		E	0,84
		R	3,4
99	L	C	7,34
		E	2,0
		D	1,01
		R	1,61
111	A	T	0,47
		K	-0,12
129	A	Q	3,93
		K	1,02
		N	3,76
		E	3,01
		D	3,76
		R	1,68
		H	2,9
134	A	K	5,37
		Y	4,32
		E	5,13
		R	6,18
		H	2,86

Ejemplo 16

Preparación y expresión de proteínas de fusión y mutantes de FGF21 de reducción de la agregación

Se prepararon constructos que codifican para los mutantes de FGF21 enumerados en la tabla 16 mediante amplificación por PCR del vector de expresión de FGF21 silvestre tal como se describe en el ejemplo 11 (la construcción del vector de expresión de FGF21 silvestre se describe en el ejemplo 1). Se generaron proteínas de fusión tal como se describe en el presente documento, por ejemplo, en el ejemplo 6. Cuando se empleó un ligador, fue GGGGGSGGGSGGGGS (“L15”, SEQ ID NO:28)

Tabla 16

Mutantes de FGF21 de reducción de la agregación

Mutación/mutaciones	Fc	Ligador
A26E		
A26K		

A26R		
A45E		
A45K		
A45K	-NH_2	L15
A45R	-NH_2	L15
A45Q	-NH_2	L15
A45T	-NH_2	L15
A45K, L98R	-NH_2	L15
L52T		
L58C		
L58E		
L58G		
L58S		
P60A		
P60E		
P60K		
P60R		
P78A		
P78C		
P78H		
P78R		
L86C		
L86T		
F88A		
F88E		
F88K		
F88R		
F88S		
L98C		
L98E	-NH_2	L15
L98K	-NH_2	L15
L98Q	-NH_2	L15
L98R		
L98R	-NH_2	L15
L99C		
L99D		
L99E		
L99R		
A111K	-NH_2	L15
A111T		
A129D		
A129E	-NH_2	L15
A129H	-NH_2	L15
A129K		
A129N	-NH_2	L15
A129R	-NH_2	L15
A129Q		
A134E		
A134H	-NH_2	L15
A134K		
A134Y		

Se sometió a ensayo la agregación de diversas proteínas FGF21, incluyendo FGF21 silvestre, polipéptidos de FGF21 truncados, mutantes de FGF21 y proteínas de fusión de FGF21 mediante cromatografía de exclusión molecular (SEC). Se incubaron las muestras que iban a analizarse a 4ºC, temperatura ambiente o 37ºC para diversos puntos de tiempo, y luego se sometieron a análisis de SEC. Se realizaron los experimentos con un sistema de HPLC de Beckman equipado con una columna de SEC. Para FGF21 silvestre, se usó una columna de SEC TSK-Gel G2000 de TOSOHAAS con PBS 2x que contenía alcohol isopropílico al 2% como fase móvil. Para proteínas de fusión de FGF21-Fc y polipéptidos mutantes de FGF21, se usó una columna de SEC TSK-Gel G3000 de TOSOHAAS con PBS 2x como fase móvil.

Ejemplo 17

Actividad *in vitro* de mutantes de FGF21 de reducción de la agregación

Se realizaron experimentos para identificar mutantes de reducción de la agregación que conservan actividad de FGF21 silvestre en un ensayo de ELK-luciferasa *in vitro*. Se realizaron ensayos de ELK-luciferasa tal como se describe en el ejemplo 4. Las figuras 24A-24C muestran los resultados de un ensayo de actividad ELK-luciferasa realizado con los mutantes de FGF21, FGF21 L99R (SEQ ID NO: 109), FGF21 L99D (SEQ ID NO: 111) y FGF21 A111T (SEQ ID NO: 113) (figura 24A); los mutantes de FGF21, FGF21 A129D (SEQ ID NO: 115), FGF21 A129Q (SEQ ID NO: 117) y FGF21 A134K (SEQ ID NO: 119) (figura 24B); y los mutantes de FGF21, FGF21 A134Y (SEQ ID NO: 121), FGF21 A134E (SEQ ID NO: 123) y FGF21 A129K (SEQ ID NO: 125) (figura 24C). Los resultados de estos experimentos demuestran que algunas de las mutaciones de reducción de la agregación no tuvieron un impacto adverso sobre la actividad de FGF21 tal como se sometió a ensayo en los ensayos de ELK-luciferasa.

Ejemplo 18

Preparación y expresión de mutantes de combinación de Fc-(L15)-FGF21 que muestran una semivida más larga y menores niveles de agregación

Se prepararon varios mutantes de combinación de FGF21, que contenían las mutaciones que mostraron que reducían la agregación así como que aumentaban la semivida mediante la alteración de la degradación proteolítica, y se conjugaron con moléculas de Fc de IgG1 (SEQ ID NO: 11). Se prepararon estos mutantes de FGF21 esencialmente tal como se describe en el ejemplo 11.

Ejemplo 19

Estudios *in vitro* de mutantes de Fc-(L15)-FGF21 que muestran una semivida más larga y menores niveles de agregación

Se realizaron experimentos para identificar mutantes de combinación de FGF21 que conservan actividad de FGF21 silvestre en un ensayo de ELK-luciferasa *in vitro*. Se realizaron ensayos de ELK-luciferasa tal como se describe en el ejemplo 4.

Las figuras 25A-25D muestran los resultados de un ensayo de actividad ELK-luciferasa realizado con los mutantes de Fc(L15)-FGF21, Fc-(L15)-FGF21 P171G, Fc-(L15)-FGF21 P171S y Fc-(L15)-FGF21 P171T (figura 25A); los mutantes de Fc(L15)-FGF21, Fc-(L15)-FGF21 P171Y, Fc-(L15)-FGF21 P171W y Fc-(L15)-FGF21 P171C (figura 25B); Fc-(L15)-FGF21, Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E) y FGF21 A45K (figura 25C); y Fc-(L15)-FGF21, Fc-(L15)-FGF21 P171E y Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E) (figura 25D). Los resultados de estos experimentos demuestran que las mutaciones destinadas a mejorar la estabilidad, o tanto la estabilidad como la solubilidad, no comprometieron la actividad *in vitro* en comparación con Fc-(L15)-FGF21 silvestre. De manera interesante, el mutante FGF21 A45K mostró una potencia mejorada en relación con Fc-(L15)-FGF21 silvestre.

La figura 26A muestra el cambio en el porcentaje de agregación para un control de FGF21 (WT) y FGF21 A45K después de la incubación de proteína 65 mg/ml a 4ºC durante 1, 2 y 4 días. Los datos indicaron que la mutación A45K conduce a una disminución de la agregación de la proteína, en comparación con la proteína silvestre.

La figura 26B muestra el cambio en el porcentaje de agregación para un control de FGF21 (WT) y FGF21 P78C, FGF21 P78R, FGF21 L86T, FGF21 L86C, FGF21 L98C, FGF21 L98R, FGF21 A111T, FGF21 A129D, FGF21 A129Q, FGF21 A129K, FGF21 A134K, FGF21 A134Y y FGF21 A134E después de la incubación de proteína 65 mg/ml a 4ºC durante 1, 6 y 10 días. Los datos indicaron que FGF21 L86C, FGF21 L98C, FGF21 L98R, FGF21 A111T, FGF21 A129Q y FGF21 A129K conducen a una disminución de la agregación de la proteína, en comparación con la proteína silvestre.

La figura 27 muestra los resultados de un ensayo de actividad ELK-luciferasa realizado con un control de FGF21 humano y los mutantes de FGF21, FGF21 A45K, FGF21 L52T y FGF21 L58E. Este experimento demuestra que el mutante FGF21 A45K conserva la eficacia total de FGF21 silvestre y muestra una potencia que es incluso mayor que FGF21 silvestre. Sin embargo, los mutantes FGF21 L52T y FGF21 L58E muestran una potencia y eficacia reducidas en comparación con FGF21 silvestre.

Las figuras 28A-28B muestran el cambio en los niveles de agregación para los mutantes de Fc-(L15)-FGF21, Fc-(L15)-FGF21 (6-181, G170E), Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E), Fc-(L15)-FGF21 P171E, Fc-(L15)-FGF21 P171A, Fc-(L15)-FGF21 G170E, y un control de FGF21 después de la incubación a 4ºC durante 1, 4 y 8 días. Este experimento demuestra que a lo largo del periodo de 8 días, el mutante de Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E) mostró menos agregación de lo que hicieron los mutantes Fc-(L15)-FGF21 G170E o Fc-(L15)-FGF21 P171E, pero los tres mutantes mostraron menos agregación de lo que hizo el control de Fc-(L15)-FGF21. La tabla 17 muestra el porcentaje de agregación obtenido para un control de Fc-(L15)-FGF21 y el mutante de Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E) después de la incubación a 4ºC o temperatura ambiente durante 0, 2, 3, 4 ó 7 días.

Tabla 17

Porcentaje de agregación para Fc-FGF21 y mutante de Fc-FGF21

Muestra		Día 0	Día 2	Día 3	Día 4	Día 7
Fc-(L15)-FGF21 WT	4ºC	1,12	1,71	1,89	2,14	2,32
32 mg/ml	TA	1,12	6,09	7,94	9,57	12,59
Fc-(L15)-FGF21 (A45K/G170E)	4ºC	0,45	0,77	0,88	1,03	1,24
33 mg/ml	TA	0,45	3,86	5,22	6,62	8,60

Ejemplo 20

Preparación y expresión de mutantes de combinación de fusión de Fc-FGF21

Tal como se describió anteriormente, la estabilidad y solubilidad de FGF21 pueden modularse a través de la introducción de sustituciones de aminoácidos y truncamientos específicos. Además, puede potenciarse adicionalmente la estabilidad de FGF21 fusionando tales proteínas FGF21 modificadas con la parte de Fc del gen de la inmunoglobulina humana IgG1. Además, introduciendo combinaciones de las modificaciones anteriores, pueden generarse moléculas de FGF21 que tienen tanto estabilidad como solubilidad potenciadas. Se prepararon secuencias de ácido nucleico que codifican para los mutantes de combinación de FGF21 enumerados en la tabla 18 usando las técnicas descritas anteriormente. El ligador empleado fue el ligador L15, GGGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:28).

Tabla 18

Mutantes de combinación de FGF21

Residuos de aminoácido	Mutación de proteólisis	Mutación de agregación	Fc	Ligador
1-181	G170E	A45K	$-NH_2$	L15
1-181	G170E	L98R	$-NH_2$	L15
1-181	G170E	A45K, L98R	$-NH_2$	L15
1-181	P171G	A45K	$-NH_2$	L15
1-181	P171S	A45K	$-NH_2$	L15
1-181	P171G	L98R	$-NH_2$	L15
1-181	P171S	L98R	$-NH_2$	L15
1-181	P171G	A45K, L98R	$-NH_2$	L15
1-178	G170E		$-NH_2$	L15
6-181	G170E		$-NH_2$	L15
6-181	G170E	A45K	$-NH_2$	L15
6-181	G170E	L98R	$-NH_2$	L15
6-181	P171G		$-NH_2$	L15
6-181	P171G	L98R	$-NH_2$	L15
7-181	G170E		$-NH_2$	L15

La figura 29 muestra los niveles de glucemia medidos en ratones a los que se les inyectaron los mutantes de combinación de Fc-(L15)-FGF21, Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E), Fc-(L15)-FGF21 (A45K, P171G) o Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G).

En otro experimento, se estudió el mutante de FGF21, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) junto con FGF21 maduro silvestre y Fc-FGF21. En un experimento, se cultivó una línea celular 293T recombinante en presencia de diferentes concentraciones de FGF21, Fc-(L15)-FGF21 o Fc-(L15) FGF21 (L98R, P171G) durante 6 horas. Luego se sometieron a ensayo los lisados celulares para determinar la actividad luciferasa. Tal como se muestra en la figura 30, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) tuvo una actividad similar a Fc-(L15)-FGF21, indicando que la introducción de las dos mutaciones puntuales no alteró la actividad *in vitro* de la molécula.

En aún otro experimento, se evaluó la estabilidad de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) a 65 mg/ml durante nueve días a dos temperaturas diferentes, concretamente temperatura ambiente y 4ºC, junto con FGF21 y Fc-(L15)-FGF21. Después del periodo de incubación, luego se analizaron los lisados celulares con SEC-HPLC para determinar un perfil de agregación frente al tiempo a diversas temperaturas. Los datos mostrados en las figuras 31A y 31B indican que la tasa de formación de agregación se redujo significativamente en Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) a temperatura ambiente (triángulos rellenos, línea discontinua en la figura 31A) y a 4ºC (triángulos rellenos, línea discontinua en la figura 31B).

Ejemplo 21

Mutantes de FGF21 resistentes a la proteólisis que comprenden mutaciones C-terminales

También se estudió la estabilidad *in vivo* de mutantes de combinación. Específicamente, se comparó la estabilidad *in vivo* de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) con la estabilidad de Fc-(L15)-FGF21 en modelos murinos y de macaco cangrejero. Se encontró que los resultados eran similares en ambas especies. En el estudio con macacos cangrejeros, se inyectaron Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y Fc-(L15)-FGF21 por vía i.v. a 23,5 mg/kg y se

recogieron alícuotas de suero y plasma en puntos de tiempo hasta 840 horas tras la dosis. Se analizaron puntos de tiempo hasta las 168 horas. Se purificaron por afinidad las muestras de punto de tiempo usando reactivos anti-Fc, luego se analizaron usando espectrometría de masas MALDI. Los resultados se correlacionaron bien entre los dos análisis.

Analizando los datos generados usando inmunoafinidad-MALDI, se observó que el corte en el sitio de P171 se eliminaba en la molécula de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) como resultado de la mutación de P171 a P171G. Sin embargo, se observó una degradación menor y lenta que daba como resultado una pérdida de hasta 3 residuos C-terminales para Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (figura 32). También se observaron las escisiones menores en los tres residuos C-terminales con otros mutantes de FGF21 después de bloquearse el sitio de escisión más susceptible entre los residuos de aminoácido 171 y 172 tal como se muestra en las figuras 20 y 21. La escisión de 3 residuos C-terminales puede representar el cese de la escisión del extremo C-terminal de la molécula por una carboxipeptidasa de modo secuencial, residuo a residuo o un ataque por proteasas específicas en los residuos de aminoácido 178 y 179 con corte no específico en los residuos de aminoácido 179-180 y 180-181. La pérdida de 2-3 aminoácidos en el extremo C-terminal podría producir unión a β-Klotho reducida y, en última instancia, disminución de la potencia y actividad *in vivo* de la molécula. Véase, por ejemplo, Yie *et al*., 2009, FEBS Lett. 583:19-24. Para abordar la aparente degradación por carboxipeptidasa del extremo C-terminal, se estudió el impacto de añadir una "caperuza" de residuos de aminoácido a diversos polipéptidos mutantes de FGF21. Se produjo una variedad de constructos, incluyendo los presentados en la tabla 19, y se sometieron a ensayo usando las técnicas descritas en el presente documento. La tabla 19 resume los resultados del ensayo de ELK-luciferasa *in vitro*.

Las caperuzas de aminoácido adecuadas pueden tener entre 1 y 15 aminoácidos de longitud, por ejemplo 1, 2, 3, 4, 5, 10 ó 15 aminoácidos de longitud. Puede emplearse cualquier número y tipo de aminoácido(s) como caperuza, por ejemplo, un único residuo de prolina, y un único residuo de glicina, dos residuos de glicina, cinco residuos de glicina, así como otras combinaciones. Se proporcionan ejemplos adicionales de caperuzas en el presente ejemplo y en la tabla 19.

Adicionalmente, para abordar el aparente ataque por proteasas en los residuos de aminoácido 178 y 179, se estudió la mutación de los residuos de aminoácido en las posiciones 179, 180 y 181. De nuevo, se produjo una variedad de constructos, incluyendo los presentados en la tabla 19, y se sometieron a ensayo usando las técnicas descritas en el presente documento. También se exploró el impacto de combinaciones de caperuza y mutaciones en estos sitios. La tabla 19 resume constructos a modo de ejemplo que se produjeron y estudiaron en el ensayo de ELK-luciferasa *in vitro*, que se realizó tal como se describe en el presente documento. De manera acorde con la terminología usada en el presente documento, hFc significa una secuencia de Fc humano (es decir, SEQ ID NO: 11), L15 se refiere al ligador L15 (es decir, GGGGGSGGGSGGGGS, SEQ ID NO:28).

Tabla 19

Eficacia y valores de CE_{50} para polipéptidos de FGF21 que comprenden modificaciones C-terminales

Constructos	CE50 (nM)	Eficacia
huFGF21	0,4	100,0%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G)	2,5	76,1%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, Y179F)	2,6	78,3%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, 1-180)		
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, 1-179)	7,8	77,4%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, A180E)	1,9	79,6%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, S181K)	130	87,9%
GSGSGSGSGS-hFGF21-(L15)-hFc		
MKEDD-hFGF21-(L15)-hFc	834	83,1%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, S181P, P182)	272	69,9%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, A180G)	3,25	76,9%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, S181G)	3,43	77,3%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, L182)		
hFGF21(L98R, P171G, G182)		
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, Y179P)	428	44,4%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, Y179G)	61	82,6%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, Y179S)	25,3	74,8%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P 171G, Y 179A)	43,2	79,6%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, S181T)	3,07	77,6%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, S181A)	2,66	73,5%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, S181L)	3,46	72,6%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, S181P)	33,8	79,5%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, A180P)	617	77,1%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, A180S)	2,18	84,7%
hFGF21(L98R, P171G, GGGGG182-6)		

hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, P182)	6,1	85,9%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, G182)	6,5	71,1%
hFc-(L15)-hFGF21(1-178, L98R, P171G)	167	63,9%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, GG182-3)	1941	84,2%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, GGGGG182-6)	4307	99,7%

La figura 33 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucemia observados en ratones db/db diabéticos (contexto de C57B6) a los que se les inyectó un control de PBS, FGF21 nativo silvestre, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y dos moléculas con caperuza a las que se les añadió un residuo de o bien prolina o bien glicina en el extremo C-terminal, es decir, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182P) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182G). Cuando se añadió un residuo al extremo C-terminal de un polipéptido de FGF21 silvestre o mutante, se hace referencia al residuo mediante su posición en la proteína resultante. Por tanto, “182G” indica que se añadió un residuo de glicina al extremo C-terminal de la proteína silvestre o mutante de 181 residuos madura. La figura 33 muestra que FGF21 nativo disminuyó los niveles de glucemia durante 6 horas mientras que los tres mutantes de Fc-FGF21 estudiados mostraron una actividad hipoglucemiante sostenida durante al menos 120 horas. Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182P), una molécula que comprende la adición de un residuo de prolina en el extremo C-terminal del componente de FGF21 de la molécula de fusión, pareció ser el más potente y dio como resultado los menores niveles de glucemia en comparación con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182G).

En un experimento posterior, se estudió la actividad *in vivo* de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182G) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182P) y se comparó con la actividad *in vivo* de una molécula con caperuza que comprendía una adición de dos glicinas en el extremo C-terminal, concretamente Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182G, 183G). La figura 34 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucemia observados en ratones ob/ob a los que se les inyectó control de PBS, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182G, 183G), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182G) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182P).

Tal como se muestra en la figura 34, todas las moléculas estudiadas mostraron una actividad hipoglucemiante sostenida en comparación con el control de PBS. Este experimento confirmó los resultados previos (figura 33) de que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182P) con una adición de prolina en el extremo C-terminal mostró una eficacia hipoglucemiante ligeramente potenciada en comparación con la molécula sin una caperuza de prolina, por ejemplo Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). Sin embargo, la adición de dos residuos de glicina en el extremo C-terminal, por ejemplo Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182G 183G), pareció reducir la potencia *in vivo* de la molécula y acortó la duración del efecto hipoglucemiante *in vivo*.

La figura 35 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucemia observados en ratones db/db diabéticos (contexto de C57B6) a los que se les inyectó control de PBS o los polipéptidos mutantes de FGF21, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, Y179S), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, Y179A), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180S) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180G). Todos los mutantes mostraron una actividad hipoglucemiante similar con una duración de acción similar.

La figura 36 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucemia observados en ratones db/db diabéticos (contexto de C57B6) a los que se les inyectó control de vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, Y179F) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E). En comparación con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, Y179F) fue menos eficaz en la disminución de la glucemia. Sin embargo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E), en los que se mutó una alanina en la posición de aminoácido de 180 a ácido glutámico, fue más eficaz que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y provocó una reducción adicional del 20% de los niveles de glucemia en comparación con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). Estos datos sugieren que la mutación A180E puede tener una degradación C-terminal reducida *in vivo* y de ese modo una potencia y eficacia mejoradas *in vivo* de la molécula.

Ejemplo 22

Estudio con monos *Rhesus*

Se generó un constructo de Fc-ligador-FGF21 usando la metodología descrita en el presente documento. El constructo comprendía una secuencia de Fc de IgG1 (SEQ ID NO: 11) fusionada en el extremo C-terminal a la secuencia del ligador L15 $(Gly)_5$-Ser-$(Gly)_3$-Ser-$(Gly)_4$-Ser (SEQ ID NO:28) que luego se fusionó en el extremo C-terminal con el extremo N-terminal de una secuencia de FGF21 maduro (SEQ ID NO:4), en la que se habían introducido dos mutaciones, L98R y P171G. Luego se expresó este constructo y se purificó tal como se describe en el presente documento. Se aisló una forma dimérica de la proteína, que se ligó mediante enlaces disulfuro intermoleculares entre la región Fc de cada monómero. Esta molécula se denomina en el presente ejemplo 22 “Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)” y tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43 y está codificada por SEQ ID NO:42. En este ejemplo, FGF21 se refiere a la forma madura de FGF21, concretamente SEQ ID NO:4.

22.1 Diseño del estudio

Se administró el constructo de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) como tratamiento prolongado y por vía subcutánea

("s.c.") a monos *Rhesus* macho no diabéticos con un IMC > 35. Se trataron otros dos grupos de monos (n=10 por grupo) o bien con FGF21 maduro (es decir, SEQ ID NO:4) o bien con un control de vehículo.

Se aclimataron los animales durante 42 días antes de la administración de cualquier compuesto de prueba y luego se dividieron en grupos de 10 y se les administraron múltiples inyecciones por vía s.c. de compuestos de prueba o artículo de control de un modo ciego, tal como se representa gráficamente en la figura 37. En resumen, se le inyectó a cada animal una vez al día el compuesto o vehículo. Se administró FGF21 diariamente, mientras que se administró Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) semanalmente. Se aumentaron las dosis de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y FGF21 cada 2 semanas, tal como se muestra en la figura 37. Se monitorizaron el peso corporal y la ingesta de alimentos en la totalidad del estudio. La CRO era ciega para el tratamiento.

Se realizaron dos pruebas de tolerancia a la glucosa oral (OGTT, *oral glucose tolerance test*) antes del inicio del tratamiento. Se usó OGTT1 para clasificar los animales en tres grupos equivalentes que tienen una distribución de animales similar basándose en el área bajo la curva (AUC) y el peso corporal. Se usaron los resultados de la segunda OGTT (OGTT2) para confirmar la clasificación de la primera OGTT (OGTT1). Se excluyeron los monos con perfiles de OGTT que no concordaban de una prueba (OGTT1) a la siguiente (OGTT2). Se muestran los resultados de las OGTT 1 y 2 en las figuras 38A y 38B, mostrándose las mediciones de AUC en la figura 38C. Se muestra el peso corporal en el nivel inicial en la figura 38D y la tabla 20.

Se realizaron las OGTT 3, 4 y 5 cada 2 semanas al final de cada tratamiento de dosis de dosis baja, media y alta. Se extrajeron muestras de sangre de animales en estado de ayuno semanalmente y se usaron para medir los niveles de glucosa, insulina, triglicéridos, así como los niveles de compuesto de prueba. También se extrajeron muestras de sangre semanalmente durante el periodo de lavado de 3 semanas.

OGTT1 de nivel inicial y OGTT2 mostraron un perfil de glucosa esperado observado en animales normales, obteniéndose una glucosa en plasma máxima a los 30 minutos, y demostraron AUC estables para los 3 grupos diferentes.

Se muestran los valores de nivel inicial en estado de ayuno para la bioquímica plasmática en la tabla 20. Se realizaron mediciones de bioquímica plasmática con muestras de sangre extraídas antes del inicio del tratamiento.

Tabla 20

Valores iniciales para el peso corporal, niveles en plasma de glucosa, insulina y triglicéridos en estado de ayuno de los tres grupos de monos *Rhesus*

	Vehículo	FGF21	Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
N	10	10	10
Peso corporal (kg)	8,5 ± 0,5	8,7 ± 0,4	8,5 ± 0,4
Glucosa en plasma (mg/dl)	91,9 ± 4,8	94,8 ± 5,3	82,2 ± 3,7
Insulina (pg/ml)	942,6 ± 121,4	976,1 ±107,7	1023,4 ± 205,1
Triglicéridos (mg/dl)	44,4 ± 4,8	58,6 ± 5,2	71,7 ± 9,8

Se seleccionaron tres niveles de dosis diferentes, la dosis baja fue de 0,1 y 0,3 mg/kg, la dosis media fue de 0,3 y 1 mg/kg y la dosis alta fue de 1 y 5 mg/kg para FGF21 y Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G), respectivamente. Se eligieron los niveles de dosis basándose en la respuesta a la dosis observada en ratones, con un régimen de dosificación basado en la frecuencia de inyección anticipada en seres humanos. Se usaron dosis equimolares de FGF21 para las dosis bajas y medias, y se elevó la dosis alta de Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) hasta 5 mg/kg (es decir, en vez de 3 mg/kg, lo que habría sido equimolar a la dosis de 1 mg/kg de FGF21).

22.2 Efecto de los compuestos de prueba sobre el peso corporal

En este experimento, para medir el efecto de los compuestos de prueba sobre el peso corporal medido semanalmente, se calculó semanalmente el porcentaje de cambio del peso corporal desde el nivel inicial en los tres grupos diferentes de monos *Rhesus*. También se midió el peso corporal durante el periodo de lavado de tres semanas. Se incluyen los valores de peso corporal en el nivel inicial para cada grupo en la tabla 20.

Se hizo un seguimiento del peso corporal en la totalidad del estudio, tanto de manera previa como tras la administración de los compuestos de prueba. El porcentaje de cambio del peso corporal desde el nivel inicial de los animales tratados con vehículos aumentó con el tiempo, mientras que el peso corporal de animales tratados con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y FGF21 disminuyó de manera dependiente de la dosis a lo largo del transcurso del periodo de tratamiento de 6 semanas, tal como se muestra en la figura 39. Tal como se observó previamente en roedores (Xu *et al.*, Diabetes 58(I):250-9 (2009)), el tratamiento con FGF21 disminuyó de manera estadísticamente significativa el peso corporal. Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) tuvo una mayor exposición de lo que lo hizo FGF21 (figura 48 y figura 47, respectivamente), ofreciendo una posible explicación para la observación de que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) mostró una disminución más pronunciada del peso corporal que FGF21.

22.3. Efecto de los compuestos de prueba sobre los niveles de insulina

Se midieron los niveles de insulina en muestras de sangre que se había extraído después de un ayuno durante la noche o después de una cena.

Se midieron los niveles de insulina en plasma en estado de ayuno en monos *Rhesus* cada semana en animales tratados o bien con vehículo, FGF21 o bien con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y durante el periodo de lavado de 3 semanas. Se extrajeron muestras de sangre en estado de ayuno aproximadamente cinco días después de la última inyección de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y aproximadamente 21 horas después de la última inyección de FGF21.

Se midieron los niveles de insulina en plasma en estado alimentado en monos *Rhesus* durante las semanas quinta y sexta de tratamiento o bien con vehículo o bien con FGF21 durante el tratamiento con dosis alta. Se extrajeron muestras de sangre en estado alimentado aproximadamente tres días después de la inyección de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y aproximadamente 2 horas después de la última inyección de FGF21. La figura 40 muestra el efecto del vehículo, FGF21 y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) sobre los niveles de insulina en estado de ayuno a lo largo del estudio completo de nueve semanas, mientras que la figura 41 representa niveles de insulina en estado alimentado determinados a partir de muestras tomadas durante las semanas 5 y 6.

De manera resumida, a las dos mayores dosis, tanto FGF21 como Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) disminuyeron de manera estadísticamente significativa los niveles de insulina en plasma en estado de ayuno y en estado alimentado. La observación de que los niveles de insulina de animales tratados con FGF21 y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) disminuyeron sin observarse un aumento de los niveles de glucosa es indicativa de un aumento de la sensibilidad a la insulina.

22.4 Efecto de los compuestos de prueba sobre OGTT (glucosa e insulina)

Se realizaron tres OGTT (OGTT 3, 4 y 5) después de iniciarse el tratamiento. Se midieron los perfiles de niveles de glucosa e insulina de OGTT5 en animales tratados durante 6 semanas con vehículo, FGF21 o Fc-FGF21 (L98R, P171G), correspondientes a las últimas dos semanas del régimen de aumento de la dosis alta. Se llevó a cabo OGTT5 aproximadamente 7 días después de la última inyección de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G), y aproximadamente 21 horas después de la última inyección de FGF21. Se muestran los perfiles de glucosa e insulina de OGTT5 en la figura 42 y la figura 43, respectivamente. Los animales tratados con Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) mostraron un aclaramiento de glucosa mejorado en comparación con animales tratados con vehículo solo a la mayor dosis y en el último punto de tiempo medido, tal como se muestra en la figura 42. Al final de la última dosis, Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) mostró la mejor mejora del aclaramiento de glucosa. FGF21 no mostró mejora del aclaramiento de glucosa. Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) tuvo una mayor exposición de lo que lo hizo FGF21 (figura 48 y figura 47, respectivamente), ofreciendo una posible explicación para la observación de que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) mostró un efecto más pronunciado sobre el aclaramiento de glucosa que FGF21. Los niveles de insulina durante OGTT5 disminuyeron de manera estadísticamente significativa en el último punto de tiempo medido en animales tratados con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) en comparación con animales tratados con vehículo.

Se calculó el porcentaje de cambio de AUC de glucosa desde el nivel inicial para las tres OGTT (OGTT 3, 4 y 5) realizadas al final de cada una de las dosis baja, media y alta en los tres grupos diferentes de monos *Rhesus* tal como se muestra en la figura 44. Se llevó a cabo OGTT5 aproximadamente siete días después de la última inyección de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y 21 horas después de la última inyección de FGF21 y mostró que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) reducía de manera estadísticamente significativa AUC5. Se muestran los valores de OGTT en el nivel inicial para cada grupo en la figura 38C.

Se midieron los niveles de glucosa en plasma en estado de ayuno en días en los que no se realizaron OGTT. No se observaron diferencias de significación estadística en los niveles de glucosa en plasma en estado de ayuno medidos entre los tres grupos de animales.

22.5 Efecto de los compuestos de prueba sobre los niveles de triglicéridos

Se calculó el porcentaje de cambio de los niveles de triglicéridos en plasma en estado de ayuno en monos *Rhesus* cada semana en animales tratados o bien con vehículo, FGF21 o bien con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y durante el periodo de lavado de 3 semanas. Se extrajeron muestras de sangre en estado de ayuno aproximadamente cinco días después de la última inyección de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y aproximadamente 21 horas después de la última inyección de FGF21. Se midieron los niveles de triglicéridos cada semana después de iniciarse el tratamiento y se muestran los porcentajes de cambio desde el nivel inicial en la figura 45, se muestran los niveles iniciales en estado de ayuno en la tabla 20.

Tal como se representa en la figura 45, los animales tratados o bien con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) o bien con FGF21 mostraron una disminución dependiente de la dosis de los niveles de triglicéridos, teniendo Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) el mayor efecto de disminución en comparación con FGF21.

La figura 46 muestra los niveles de triglicéridos en plasma en muestras adquiridas de Monos *Rhesus* en un estado

alimentado, durante las semanas quinta y sexta de tratamiento con vehículo o Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) o FGF21. Se extrajeron muestras de sangre en estado alimentado aproximadamente 3 días después de la inyección de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y aproximadamente 2 horas después de la última inyección de FGF21. Los niveles de triglicéridos en plasma en estado alimentado de animales tratados con FGF21 y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) se redujeron de manera estadísticamente significativa, en comparación con los niveles de triglicéridos de animales tratados con vehículo (figura 46).

22.6 Concentración de los compuestos de prueba

Se evaluó la exposición de los compuestos sometidos a prueba administrados a niveles de dosis molares aproximadamente equivalentes en la totalidad del periodo de estudio. Se midió la concentración de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) de manera previa a la dosis, y aproximadamente 5 días después de la última inyección. Se midieron los niveles de FGF21 de manera previa a la dosis, y a los 5, 12, 19 y 26 días. Se extrajeron muestras de sangre aproximadamente 21 horas después de la última inyección.

Se muestra la concentración individual de los compuestos sometidos a prueba en cada mono en las figuras 47 y 48. Tal como se muestra en la figura 47, la mayoría de los animales en el grupo tratado con FGF21 tenían concentraciones por debajo del límite de cuantificación. La figura 48 muestra que los animales en el grupo tratado con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) tenían niveles detectables de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) durante cada fase de dosificación (dos dosis semanalmente a la misma concentración de dosis). La concentración promedio de cada fase de dosificación aumentó de manera aproximadamente proporcional a la dosis desde 0,3 hasta 5 mg/kg para Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). Existe una acumulación mínima tal como se demostró mediante las concentraciones constantes después de las dosis semanales primera y segunda dentro de cada fase de aumento de la dosis para ambos compuestos. Durante la fase sin tratamiento (periodo de lavado) los niveles de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) fueron detectables hasta aproximadamente el día 47 (12 días tras la última dosis) y estuvieron por debajo del límite inferior de cuantificación (LLOQ) después de eso.

También se monitorizó la exposición de los compuestos de prueba durante cada OGTT. FGF21 no fue detectable durante las OGTT 3 y 4, tras el tratamiento con FGF21 a dosis baja y media. Sin embargo, se observaron niveles medibles durante la OGTT5, tras el tratamiento a dosis alta. Se observó un aumento proporcional a la dosis de los niveles de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) a lo largo de las OGTT tercera a quinta con niveles de dosis crecientes, tal como se muestra en la figura 49.

Los datos de los niveles de compuestos confirman que se expusieron los animales a la cantidad esperada de cada compuesto, concretamente FGF21 y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G), de una manera con aumento de la dosis. Se observó una gran variabilidad en la cantidad de FGF21 medida, lo que era un resultado esperado considerando que la toma de muestras se realizó aproximadamente 21 horas tras la última dosis y la semivida de FGF21 es de aproximadamente 1 hora.

22.7 Conclusiones

FGF21 disminuyó los niveles de triglicéridos y de insulina en plasma en estado de ayuno y en estado alimentado y disminuyó el peso corporal a las mayores dosis. Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) mejoró OGTT y disminuyó los niveles de insulina a la mayor dosis, y disminuyeron de manera dependiente de la dosis los niveles de trigliceridos en plasma en estado de ayuno y en estado alimentado así como el peso corporal. Tanto FGF21 como Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) disminuyeron varios parámetros metabólicos en los monos *Rhesus* no diabéticos. Las disminuciones de los niveles de insulina y triglicéridos fueron idénticas entre FGF21 y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) cuando los niveles circulantes de compuesto estaban en un intervalo similar, en el estado alimentado. Debido a sus propiedades mejoradas, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) fue superior a FGF21 en la mayor parte de los parámetros medidos y pudo administrarse una vez a la semana para observar eficacia sobre los parámetros metabólicos.

Ejemplo 23

Molécula de fusión de Fc, Fc-(G4S)3-FGF21(L98R, P171G, A180E)

Se generó una fusión de Fc que comprendía un mutante de FGF21, que se unió a un componente de Fc de IgG1 mediante un ligador. El componente de FGF21 de la fusión de Fc comprendía tres mutaciones puntuales modificadas por ingeniería en la secuencia de polipéptido de FGF21, concretamente L98R, P171G, A180E (basándose la numeración en la forma madura de FGF21, proporcionada como SEQ ID NO:4). Esta molécula se construyó conjugando un Fc humano (SEQ ID NO: 11) al extremo N-terminal del FGF21 mutante L98R, P171G, A180E (SEQ ID NO:39) a través de un ligador de 15 aminoácidos que comprendía la secuencia de GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:31). Esta molécula se designó como “Fc-(G4S)3-FGF21(L98R, P171G, A180E)” y se muestra su secuencia de aminoácidos de longitud completa en la figura 50 y en SEQ ID NO:47; está codificada por el ácido nucleico de SEQ ID NO:46. Las pruebas *in vitro* de Fc-(G4S)3-FGF21(L98R, P171G, A180E) mostraron que es un potente estimulador de la fosforilación de Erk en una línea celular recombinante que sobreexpresa β-Klotho. Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) también mostró afinidad de unión a β-Klotho potenciada en comparación con la fusión de Fc de FGF21 silvestre o la fusión de Fc de FGF21-(G4S)3-FGF21

(L98R, P171G) (SEQ ID NO:45). Cuando se inyectó en modelos de animales diabéticos, Fc-(G4S)3-FGF21(L98R, P171G, A180E) redujo los niveles de glucemia, disminuyó el peso corporal, y fue adecuado para la inyección cada dos semanas.

23.1 Actividad *in vitro* de Fc-(G4S)3-FGF21(L98R, P171G, A180E)

Se realizaron experimentos para examinar si Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) conservaba una actividad similar a la fusión de Fc de FGF21 silvestre o FGF21 nativo silvestre en un ensayo de ELK-luciferasa *in vitro*.

Se realizaron ensayos de ELK-luciferasa usando un sistema de células de riñón 293T humanas recombinantes, en el que las células 293T sobreexpresan constructos de indicador de luciferasa y β-Klotho, β-klotho es un correceptor requerido para que FGF21 active los receptores de FGF e induzca la transducción de señales intracelulares, incluyendo fosforilación de Erk. Los constructos de Erk-indicador de luciferasa contienen secuencias que codifican para GAL4-ELK1 y 5xUAS-indicador de luciferasa. 5xUAS-indicador de luciferasa está dirigido por un promotor que contiene cinco copias en tándem del sitio de unión a Gal4. La actividad indicadora está regulada por el nivel de Erk fosforilado, y se usa para indirectamente monitorizar y cuantificar la actividad de FGF21.

Se realizaron ensayos de ELK-luciferasa cultivando las células 293T en presencia de diferentes concentraciones de FGF21 silvestre, fusión de Fc de FGF21 silvestre, Fc-L15-FGF21 (L98R, P171G, A180E) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) durante 6 horas, y luego sometiendo a ensayo los lisados celulares para determinar la actividad luciferasa. Las luminiscencias obtenidas en los ensayos de ELK-luciferasa para cada uno de los constructos de FGF21 se expresaron en el eje y las concentraciones de compuesto se expresaron en el eje x.

La figura 51 muestra la respuesta a la dosis de los compuestos sometidos a prueba en ensayos de Erk-luciferasa. Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) conservaron de manera similar la actividad en comparación con la fusión de Fc de FGF21 silvestre, lo que sugiere que una combinación de mutaciones con L98R, P171G y A180E no cambió la bioactividad de FGF21. En comparación con FGF21 silvestre nativo, los constructos de fusión de Fc mostraron una potencia reducida ligeramente y la actividad máxima en este ensayo basado en células con el correceptor β-Klotho sobreexpresado.

23.2 Actividad *in vitro* de fusiones de Fc-FGF21(L98R, P171G, A180E) que comprenden diferentes secuencias de ligador

Se generó un análogo de fusión de Fc similar fusionando el Fc de IgG1 humana a FGF21 (L98R, P171G, A180E) a través de una secuencia de ligador diferente, GGGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:28). Este ligador se designó como L15 y la molécula de fusión resultante se designó como Fc-L15-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:57). En este experimento, se estudió el efecto de diferentes secuencias de ligador sobre la actividad de fusiones de Fc-FGF21 (L98R, P171G, A180E).

Se realizaron ensayos de ELK-luciferasa cultivando las células 293T en presencia de diferentes concentraciones de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) y Fc-L15-FGF21 (L98R, P171G, A180E) durante 6 horas, y luego sometiendo a ensayo los lisados celulares para determinar la actividad luciferasa. Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) mostró una actividad similar a Fc-L15-FGF21 (L98R, P171G, A180E), indicando que diferentes secuencias de ligador, por ejemplo, ligadores (G4S)3 o L15, no tuvieron un impacto significativo sobre la bioactividad de fusiones de Fc-FGF21.

23.3 Afinidad de unión *in vitro* de Fc-(G4S)3-FGF21(L98R, P171G, A180E) para β-Klotho en ensayos de unión

Se sometió a prueba la unión de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) a β-Klotho humano y de macaco cangrejero en un ensayo de unión de equilibrio en disolución de Biacore. También se comparó la afinidad de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) con un análogo de FGF21 fusión de Fc solo con las mutaciones L98R y P171G, concretamente Fc-L15-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43).

Se inmovilizó neutravidina sobre un chip CM5 usando acoplamiento de amina. Se capturó biotina en la segunda celda de flujo a ~1500 UR. Se usó la primera celda de flujo como control de fondo. Se incubaron los mutantes de FGF21 a diluciones 5x (0,03-2000 nM) con β-Klotho humano 10 nM o de macaco cangrejero 25 nM en PBS más BSA 0,1 mg/ml, P20 al 0,005% a temperatura ambiente durante 1 hora. Se midió la unión de β-Klotho libre en las disoluciones mezcladas mediante inyección sobre la superficie de biotina-FGF21. Se determinó la señal de unión a β-Klotho del 100% en ausencia de mutantes de FGF21 en la disolución. Una disminución de la respuesta de unión a β-Klotho con concentraciones crecientes de mutantes de FGF21 indicó que β-Klotho se unió a mutantes de FGF21 en disolución, lo que bloqueó β-Klotho frente a la unión a la superficie inmovilizada de biotina-FGF21. Se representó gráficamente la unión relativa de la mezcla frente a la concentración molar de FGF21 usando GraphPad Prizm 5. Se calculó la CE_{50} usando un ajuste no lineal de competencia por un sitio en el mismo software.

La figura 52 mostró los resultados de un ensayo de unión de equilibrio en disolución de Biacore de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) y Fc-L15-FGF21 (L98R, P171G) a β-Klotho humano (derecha) y de macaco cangrejero (izquierda). Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) mostró una actividad de unión mejorada al menos

2x tanto a β-Klotho humano como de macaco cangrejero en comparación con Fc-L15-FGF21 (L98R, P171G).

23.4 Eficacia *in vivo* de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) en ratones db/db diabéticos

Se estudió la cuestión de si Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) podía ejercer efectos beneficiosos metabólicos, tales como la disminución de la glucemia y la reducción del peso corporal, en ratones db/db diabéticos. El estudio también estaba destinado a examinar la duración y respuesta a la dosis de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) después de una única inyección. Se le inyectó Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) a dosis de 0,1, 0,3, 1 y 3 mg/kg por vía intraperitoneal a ratones db/db diabéticos. También se incluyó un grupo tratado con vehículo (Tris 10 mM, sacarosa al 2,2%, sorbitol al 3,3%, pH 8,5) en el estudio. Se extrajeron muestras de sangre de cada animal (n=10 por grupo) en el nivel inicial (antes de la inyección), y 6, 24, 72, 120 y 168 horas después de la inyección. Se midieron los niveles de glucemia con un glucómetro OneTouch (LifeScan, Inc. Milpitas, CA). Se midió el peso corporal en el nivel inicial (tiempo 0), 24, 72, 120 y 168 horas después de la inyección.

La figura 53A muestra los niveles de glucemia en ratones db/db en diversos puntos de tiempo tras la inyección de vehículo o Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E). Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) dio como resultado una disminución dependiente de la dosis de los niveles de glucemia en ratones db/db. La máxima reducción de glucosa fue aproximadamente el 50% desde el nivel inicial o en comparación con el grupo tratado con vehículo. Se alcanzó el máximo efecto en el plazo de 6 horas después de la inyección y se mantuvo durante 120 horas tras la inyección. Los niveles de glucemia empezaron a volver al nivel inicial en aproximadamente 168 horas. La DE_{50} estimada, la dosis requerida para lograr la mitad del efecto máximo, para Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) fue de aproximadamente 1 mg/kg en ratones db/db.

La figura 53B muestra el efecto de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) sobre el peso corporal después de una única inyección en ratones db/db. Se expresan los resultados como el cambio del peso corporal desde tiempo 0 (antes de la inyección). Los ratones tratados con vehículo mostraron un aumento de peso corporal progresivo y estable durante el periodo del estudio de 7 días. Sin embargo, la tasa de crecimiento del peso corporal se inhibió en ratones tratados con Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) de manera dependiente de la dosis. Cuanto mayor era la dosis, más larga fue la inhibición del crecimiento. En un ejemplo, Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) mitigó el aumento de peso corporal durante 5 días a 3 mg/kg, 3 días a 1 mg/kg, o 1 día a 0,3 mg/kg. Se recuperaron las tasas de crecimiento después de eso. La DE_{50} estimada de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) sobre la reducción del peso corporal fue de aproximadamente 1 mg/kg en este experimento.

23.5 Comparación de eficacia de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) y Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) en ratones DIO con diferentes frecuencias de inyección

El estudio fue para determinar si Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) podría inyectarse con menos frecuencia que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) pero lograr una eficacia similar. Se llevó a cabo el estudio en ratones DIO con Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) administrado una vez a la semana (Q7D) o una vez cada dos semanas (Q14D) o Fc-L15-FGF21 (L98R, P171G) administrado dos veces a la semana (BIW), Q7D o Q14D.

Se prepararon ratones DIO alimentando a ratones C57BL/6 macho de 4 semanas de edad con una dieta rica en grasa que contenía el 60% de la energía procedente de grasa enriquecida con ácidos grasos saturados (D12492, Research Diets, Inc., New Brunswick, NJ). Después de 12 semanas de alimentación con la dieta rica en grasa, se midieron el peso corporal y los niveles de glucemia. Luego se aleatorizaron los ratones DIO a los grupos de vehículo o tratamiento para lograr niveles iniciales promedio similares de glucemia y peso corporal. Se incluyeron un total de 7 grupos en el estudio: vehículo administrado a Q7D; Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) administrado a Q7D o Q14D; o Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) administrado a BIW, Q7D o Q14D. La inyección fue intraperitoneal y el estudio se llevó a cabo durante 31 días. Se midió el peso corporal semanalmente. Se realizó una GTT en el día de estudio 28 y se terminó el estudio el día 31. El diseño del estudio se muestra gráficamente en la figura 54.

La figura 55 muestra los perfiles de GTT en ratones tratados con vehículo, Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) o Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) a diferentes frecuencias de dosificación. La tolerancia a la glucosa mejoró de manera estadísticamente significativa en ratones tratados con Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) a la dosificación o bien Q7D o bien Q14D en comparación con vehículo, lo que sugiere que Fc-(G4S)3-FGF21(L98R, P171G, A180E) es eficaz y adecuado para la administración Q14D en ratones DIO. Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) mejoró la tolerancia a la glucosa cuando se administró a BIW o Q7D, pero no Q14D, lo que sugiere que Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) puede ser menos adecuado para la inyección Q14D en ratones. La eficacia de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) a Q7D o Q14D fue comparable a la de Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) a BIW o Q7D respectivamente, lo que sugiere que Fc-(G4S)3-FGF21(L98R, P171G, A180E) podría administrarse de manera 2 veces menos frecuente que Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G).

La figura 56 muestra los cambios de peso corporal desde el nivel inicial (día 0) en ratones tratados con vehículo, Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) o Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) a diferentes frecuencias de dosificación. Los ratones tratados Q7D con Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, Al 80E) perdieron un peso corporal significativo como lo hicieron ratones tratados BIW con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). El peso corporal se redujo moderadamente en ratones tratados Q14D con Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) o Q7D con Fc-(L15)-

FGF21 (L98R, P171G). No se observó un efecto significativo sobre el peso corporal en ratones tratados Q14D con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, Pl 71G). El efecto sobre el peso corporal concordó con el efecto sobre GTT tal como se describió anteriormente, lo que sugiere que Fc-(G4S)4-FGF21 (L98R, P171G, A180E) fue eficaz a la dosificación Q14D y requirió inyecciones aproximadamente 2 veces menos frecuentes que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) para lograr el mismo efecto.

EJEMPLO 24

Formulaciones de hidrogel que comprenden mutantes de FGF21

Como agente de formulación para productos terapéuticos basados en proteínas, los hidrogeles ofrecen varias propiedades deseadas. Por ejemplo, los hidrogeles preservan la estructura y función nativas de la proteína incorporada en el hidrogel. Además, se toleran bien y dependiendo del polímero y tipo de reticulación, pueden ser biodegradables. Adicionalmente, los hidrogeles se han usado previamente de manera satisfactoria para la liberación sostenida de proteínas. Por consiguiente, se investigaron hidrogeles como posible método de administración para los mutantes de FGF21 dados a conocer en el presente documento.

Para todos los experimentos descritos en este ejemplo, se prepararon hidrogeles de la siguiente manera. Se preparó una disolución al 1,25% de gelatina bovina (Sigma) en PBS. Se añadió el agente de reticulación anhídrido metacrílico a una razón molar (de MA con respecto a gelatina) de 16:1, 24:1 ó 32:1. Se dializó la disolución resultante frente a agua para retirar cualquier metacrilamida sin polimerizar para crear un vehículo de hidrogel. Finalmente, se liofilizó el vehículo de hidrogel y se almacenó a 4ºC hasta que se estuvo listo para producir hidrogeles que comprendían un mutante de FGF21. Esta preparación puede usarse para preparar vehículos de hidrogel basados en gelatina que pueden adaptarse posteriormente para comprender cualquiera de los mutantes de FGF21 dados a conocer en el presente documento.

Luego se prepararon hidrogeles con mutantes de FGF21 específicos. Partiendo de un vehículo de hidrogel de gelatina metacrílica, liofilizado al 10%, se prepararon disoluciones. Se calentaron los vehículos de hidrogel y luego se centrifugaron para disolver y licuar el vehículo de hidrogel de gelatina de MA liofilizado. Luego se añadió la proteína FGF21 seleccionada (FGF21 (L98R, P171G), (SEQ ID NO:37)) en el presente ejemplo), a la disolución de gelatina licuada hasta una concentración predeterminada. Luego se añadió una disolución madre de TEMED. Luego se añadió una disolución madre de KPS y se mezcló la disolución suavemente. Se llenaron jeringas de 1 ml hasta 200 μl y se dejaron en reposo durante de 1,5 a 2 horas a temperatura ambiente. Se almacenaron las jeringas a -20ºC y se descongelaron a 4ºC durante la noche antes de su uso. Se usó como control un vehículo de hidrogel que comprendía Tris 10 mM, sacarosa al 9%, pH 8,5 sin añadirse mutante de FGF21.

Para los experimentos *in vivo*, se pusieron las jeringas sobre una manta eléctrica a 37ºC durante aproximadamente 10 minutos antes de la inyección a los animales.

24.1 Actividad *in vitro* de FGF21 (L98R, P171G) liberado de hidrogeles al 10% con diversas razones de reticulación

Un objetivo de este experimento fue someter a prueba si FGF21 (L98R, P171G) liberado de hidrogel es biológicamente activo en comparación con la forma nativa de FGF21 (L98R, P171G) en un ensayo de ELK-luciferasa *in vitro*.

Se preparó FGF21 (L98R, P171G) y se incorporó en disoluciones de gelatina metacrílica al 10% con razones de reticulación de gelatina metacrílica a 16: 1, 24: 1 y 32:1 tal como se describe. Luego se dispersaron los hidrogeles en una disolución tampón *in vitro* para permitir la liberación de FGF21 (L98R, P171G). Se recogió el medio después de 100 ó 150 horas y se sometió a ensayos *in vitro* para determinar la actividad de FGF21 (L98R, P171G). Ensayos analíticos (por ejemplo, SDS-PAGE, HPLC de exclusión molecular y HPLC de fase inversa) muestran que el FGF21 (L98R, P171G) liberado estaba intacto en todos los puntos de tiempo.

Se realizaron ensayos de ELK-luciferasa usando un sistema de células de riñón 293T humanas recombinantes, en el que las células 293T sobreexpresan constructos de indicador de luciferasa y β-Klotho. β-Klotho es un correceptor que se requiere por FGF21 para la activación de sus receptores de FGF. Los receptores de FGF usados en este ensayo son endógenos a los receptores de FGF expresados en la célula de riñón 293T. Los constructos de indicador de luciferasa contienen secuencias que codifican para GAL4-ELK1 y un indicador de luciferasa dirigido por un promotor que contiene cinco copias en tándem del sitio de unión a Gal4 (5xUAS-Luc). La actividad luciferasa está regulada por el nivel de Erk/ELK1 fosforilado, y se usa para indirectamente monitorizar y cuantificar la actividad de FGF21.

Se realizaron ensayos de ELK-luciferasa cultivando las células 293T en presencia de diferentes concentraciones de la forma nativa de FGF21 (L98R, P171G) o FGF21 (L98R, P171G) liberado de hidrogel durante 6 horas, y luego sometiendo a ensayo los lisados celulares para determinar la actividad luciferasa. La figura 57 muestra los resultados *in vitro* del ensayo de ELK-luciferasa. FGF21 (L98R, P171G) liberado de hidrogeles con razones de reticulación de gelatina metacrílica a 16: 1, 24: 1 y 32: 1 fue biológicamente activo con actividad equivalente a la forma nativa de FGF21 (L98R, P171G). Los datos demostraron que el hidrogel preservó la estructura y función de la proteína incorporada y el FGF21 (L98R, P171G) liberado es activo y estable incluso después de 10-15 horas en el

medio.

24.2 Eficacia *in vivo* de FGF21 (L98R, P171G) de hidrogel a diferentes razones de reticulación en ratones ob/ob

El objetivo de este experimento era determinar si un hidrogel de FGF21 (L98R, P171G) preparado con razones de reticulación de gelatina metacrílica a 24:1 y 32:1 proporcionaba una liberación sostenida de FGF21 (L98R, P171G) biológicamente activo *in vivo* y, en última instancia, dando como resultado una eficacia más larga *in vivo* en comparación con la forma nativa de FGF21 (L98R, P171G). Además, basándose en la evaluación de las tasas de liberación *in vitro*, se determinó que mayores razones de reticulación de gelatina metacrílica proporcionan una mejor liberación sostenida del FGF21 (L98R, P171G) incorporado. Por tanto, otro objetivo de este experimento era comparar dos hidrogeles de FGF21 (L98R, P171G) preparados con razones de reticulación de gelatina metacrílica a 24:1 y 32:1.

FGF21 presenta varias actividades biológicas, incluyendo la capacidad para disminuir los niveles de glucemia, insulina, triglicéridos o colesterol; reducir el peso corporal; o mejorar la tolerancia a la glucosa, el gasto de energía o la sensibilidad a la insulina. Se introdujeron hidrogeles de FGF21 (L98R, P171G) en ratones ob/ob con resistencia a insulina, y se midieron las capacidades del hidrogel de FGF21 (L98R, P171G) para disminuir la glucemia y reducir el peso corporal. El procedimiento para el trabajo *in vivo* fue el siguiente. Se prepararon hidrogeles usando el procedimiento descrito anteriormente. Se les afeitó el pelo a ratones ob/ob de 8 semanas de edad (Jackson Laboratory) en el sitio de inyección y se anestesiaron con isoflurano y O_2 justo antes de la inyección. Se inyectaron lentamente los hidrogeles (0,2 ml) bajo la piel y se aplicó Vetbond en el sitio de inyección después de la inyección. También se incluyeron vehículo (Tris 10 mM, sacarosa al 9% pH 8,5) o FGF21 nativo (L98R, P171G) en el experimento y se inyectaron de manera similar a los hidrogeles. Se devolvieron los animales a su jaula después de despertarse de la anestesia. Se extrajeron muestras de sangre antes de la inyección y en diversos puntos de tiempo tras la inyección, por ejemplo, 0, 3, 6, 24, 72, 120, 192 y 264 horas después de la inyección. Se midieron los niveles de glucemia con un glucómetro OneTouch (LifeScan, Inc. Milpitas, CA). También se monitorizó el peso corporal.

Las figuras 58 y 59 resumen los resultados del experimento. En comparación con hidrogel de control o vehículo, la forma nativa de FGF21 (L98R, P171G) redujo rápidamente los niveles de glucemia a las 3 y 6 h tras la inyección. Sin embargo, la actividad *in vivo* de la forma nativa de FGF21 (L98R, P171G) disminuyó y los niveles de glucemia volvieron al nivel inicial 24 horas después de la inyección. Los hidrogeles de FGF21 (L98R, P171G) dieron como resultado la reducción de la glucemia tan solo 3 h tras la inyección y se mantuvo la actividad hasta 8 días. No hubo una diferencia significativa entre las razones de reticulación a 24:1 o 32:1. Los grupos tratados con hidrogel de FGF21 (L98R, P171G) también mostraron un aumento de peso corporal más lento que los ratones tratados con vehículo o hidrogel solo. Estos resultados demostraron que los hidrogeles de FGF21 (L98R, P171G) preparados con razones de reticulación de gelatina metacrílica a 24:1 y 32:1 pueden proporcionar una liberación sostenida de FGF21 biológicamente activo (L98R, P171G) *in vivo* y, en última instancia, dando como resultado una eficacia más larga *in vivo* en comparación con la forma nativa de FGF21 (L98R, P171G).

24.3 Eficacia *in vivo* de FGF21 (L98R, P171G) y FGF21 (L98R, P171G, A180E) de hidrogel a diferentes razones de reticulación en ratones db/B6

Se prepararon formulaciones de hidrogel usando gelatina bovina (Sigma) y varios constructos y mutantes de FGF21, concretamente FGF21 (L98R, P171G) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E). También se preparó un control de hidrogel. Se pusieron los 0,2 ml de hidrogel en una jeringa de 1 ml que tenía una aguja 21G.

Se prepararon controles de hidrogel e hidrogeles que comprendían un mutante de FGF21 tal como se describió anteriormente. Se les afeitó el pelo a ratones db/B6 de 8 semanas de edad (Jackson Laboratory) en el sitio de inyección y se anestesiaron con isoflurano y O_2 justo antes de la inyección. Se inyectaron lentamente los hidrogeles (0,2 ml) bajo la piel y se aplicó Vetbond en el sitio de inyección después de la inyección. También se incluyeron vehículo (Tris 10 mM, sacarosa al 9% pH8,5) o FGF21 nativo (L98R, P171G) en el experimento y se inyectaron de manera similar a los hidrogeles. Se devolvieron los animales a su jaula después de despertarse de la anestesia. Se extrajeron muestras de sangre antes de la inyección y en diversos puntos de tiempo tras inyección, por ejemplo, 0, 24, 96, 168, 240, 312 horas después de la inyección. Se midieron los niveles de glucemia con un glucómetro OneTouch (LifeScan, Inc. Milpitas, CA). También se monitorizó el peso corporal.

El diseño experimental fue el siguiente:

Grupo de animales (n=9 por grupo)

A. Hidrogel de control 32:1 (10%) MA:HU4 200 μl

B. Hidrogel de FGF21 (L98R, P171G) 32:1 (10%) MA:HU4 0,5 mg/ratón

(200 μl, ~ 10 mg/kg)

C. Hidrogel de FGF21 (L98R, P171G) 32:1 (10%) MA:HU4 1,5 mg/ratón

(200 µl -30 mg/kg)

D. Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (no hidrogel)

3 mg/kg

Se midieron diversos parámetros y se muestran los resultados de los experimentos en las figuras 60-63. La figura 60 muestra el cambio en la glucemia a lo largo del transcurso del experimento de 14 días, mientras que la figura 61 muestra el porcentaje de cambio en la glucemia a lo largo del mismo periodo. La figura 62 muestra el cambio en el peso corporal a lo largo del transcurso del experimento de 14 días, mientras que la figura 63 muestra el porcentaje de cambio en el peso corporal a lo largo del mismo periodo.

Los resultados del experimento mostrado gráficamente en las figuras 60-63 pueden resumirse de la siguiente manera:

FGF21 (L98R, P171G) 32:1 (10%)MA:HU4 a 10 mg/kg fue eficaz en la reducción de la glucemia a las 24 horas tras la inyección y el nivel de glucemia volvió al nivel inicial entre 4-7 días.

FGF21 (L98R, P171G) 32:1 (10%)MA:HU4 a 30 mg/kg fue más eficaz en la reducción de la glucemia que la dosificación de 10 mg/kg, y se observó que el nivel de glucemia volvió al nivel inicial entre 7-10 días.

Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) a 3 mg/kg redujo por sí mismo la glucemia a las 24 horas tras la inyección en un grado que fue similar al de FGF21 (L98R, P171G) a 30 mg/kg procedente de los hidrogeles.

El control de hidrogel (que no comprendía un mutante de FGF21) no tuvo ningún efecto sobre la reducción de la glucemia.

Los grupos tratados con hidrogel de FGF21 (L98R, P171G) y Fc-(G4S)3-FGF21(L98R, P171G, A180E) (que no se presentó en un hidrogel) mostraron un aumento reducido del peso corporal en comparación con ratones tratados con un control de hidrogel.

Ejemplo 25

Estudios con macacos cangrejeros

Se generaron dos constructos de Fc-ligador-FGF21 usando la metodología descrita en el presente documento. Un constructo comprendía una secuencia de Fc de IgG1 (SEQ ID NO: 11) fusionada en el extremo C-terminal a una secuencia de ligador $(Gly)_5$-Ser-$(Gly)_3$-Ser-$(Gly)_4$-Ser (SEQ ID NO:28) que luego se fusionó con el extremo N-terminal de una secuencia de FGF21 maduro (SEQ ID NO:4), en la que se introdujeron dos mutaciones, L98R y P171G. Esta molécula se denomina en el presente ejemplo “Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)” (SEQ ID NO:43). Un segundo constructo comprendía una secuencia de Fc de IgG1 (SEQ ID NO: 11) fusionada en el extremo C-terminal a una secuencia de ligador $(Gly)_4$-Ser-$(Gly)_4$-Ser-$(Gly)_4$-Ser (SEQ ID NO:31) que luego se fusionó con el extremo N-terminal de una secuencia de FGF21 maduro (SEQ ID NO:4), en la que se introdujeron tres mutaciones, L98R, P171G y A180E. Esta molécula se denomina en el presente ejemplo “Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E)” (SEQ ID NO:47). Luego se expresaron estos constructos y se purificaron tal como se describe en el presente documento, y se aislaron como la forma dimérica de la proteína, de la que se ligó cada monómero mediante enlaces disulfuro intermoleculares entre la región Fc de cada monómero.

25.1 Diseño del estudio

Se llevó a cabo el estudio en macacos cangrejeros con características de tolerancia alterada a la glucosa (IGT). Los monos tenían 8-18 años de edad. Sus pesos corporales oscilaron entre 5-15 kg y el IMC osciló entre 32-70 kg/m^2. Se aclimataron 44 monos durante 6 semanas antes del inicio de la administración del compuesto. Durante el periodo de aclimatación, se entrenaron los monos 4 veces a la semana durante 4 semanas para familiarizarse con los procedimientos incluyendo restricción a la silla, inyección subcutánea (PBS, 0,1 ml/kg), sonda nasogástrica (agua, 10 ml/kg), extracción de sangre para muestras no procedentes de no OGTT y de OGTT. Después de 4 semanas de entrenamiento, se midieron parámetros metabólicos en plasma y OGTT de nivel inicial. Se seleccionaron 40 de 44 monos y se aleatorizaron a tres grupos de tratamiento para lograr niveles iniciales similares de peso corporal, respuesta de AUC de OGTT y niveles de glucosa y triglicéridos en plasma.

Se llevó a cabo el estudio de modo ciego. Se marcaron el vehículo (n=14), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (n=13) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (n=13) como compuesto A, B y C y se administraron una vez a la semana mediante inyección subcutánea. Se administraron los compuestos de un modo con aumento de la dosis desde niveles bajo (0,3 mg/kg), medio (1 mg/kg) a alto (3 mg/kg) y se aumentó la dosis cada tres semanas. Después de 9 semanas de tratamientos con compuesto, se monitorizaron los animales durante 3 semanas adicionales para el lavado del compuesto y la recuperación de los tratamientos. Se monitorizaron la ingesta de alimentos, el peso corporal, la bioquímica clínica y OGTT en la totalidad del estudio. Se midió la ingesta de alimentos en cada comida. Se midió el peso corporal semanalmente. Se extrajeron muestras de sangre semanalmente 5 días tras cada inyección para medir los niveles de glucosa, triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL y LDL. Se llevaron a cabo

OGTT cada tres semanas después del inicio de los tratamientos (al final de cada nivel de dosis). El día que se inicia el tratamiento se designa como 0 y se muestra plan de estudio detallado en la figura 64.

Los resultados mostrados en este ejemplo son los datos recopilados al final del tratamiento de 9 semanas.

25.2 Efecto de los compuestos de prueba sobre la ingesta de alimentos

Se alimentaron los animales dos veces al día, recibiendo cada animal 120 g de alimento formulado establecido durante el periodo de aclimatación. Se retiraron los alimentos sobrantes y se pesaron después de cada comida para calcular la ingesta de alimentos. El tiempo de alimentación fue desde las 8:00 a.m. hasta las 8:30 a.m. (± 30 minutos) y luego desde las 4:30 p.m. hasta las 5:00 p.m. (± 30 minutos). Para producir recompensas, se suministró una manzana (150 g) a cada animal de 11:30 a 12:30 p.m. (± 30 minutos) cada día.

En comparación con el vehículo, tanto Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) como Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) redujeron la ingesta de alimentos en monos (figuras 65, 66 y 67). Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) inhibió la ingesta de alimentos en cada comida incluyendo las comidas a.m., de fruta y p.m. a una dosis de 0,3 mg/kg. Sin embargo, el efecto disminuyó y la ingesta de alimentos se volvió próxima al nivel inicial o niveles de control después de aproximadamente 30 días de tratamiento cuando se aumentó la dosis hasta 1 mg/kg. Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) no tuvo un efecto significativo sobre la ingesta de alimentos a.m. y solo redujo moderadamente la ingesta de alimentos en la comida p.m. cuando se aumentó la dosis hasta 1 y 3 mg/kg. Sin embargo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) redujo la ingesta de fruta de manera similar a Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E). De manera global, Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) mostró un mayor efecto sobre la inhibición de la ingesta de alimentos que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). El efecto sobre la ingesta de alimentos pareció ser a corto plazo y se recuperó la ingesta de alimentos después de aproximadamente 30 días de tratamiento.

25.3. Efecto de los compuestos de prueba sobre el peso corporal

Se monitorizó el peso corporal semanalmente en la totalidad del estudio. A lo largo del transcurso de los tratamientos de 9 semanas, el peso corporal de los animales tratados con vehículo permaneció constante mientras que el peso corporal de los animales tratados con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) disminuyó progresivamente. Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) dio como resultado una disminución más pronunciada del peso corporal que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) tal como se muestra en la figura 68.

25.4. Efecto de los compuestos de prueba sobre el índice de masa corporal (IMC), grosor de pliegue cutáneo (SFT, *skin fold thickness*) y perímetro abdominal (AC, *abdominal circumference*)

Se monitorizaron IMC, SFT y AC semanalmente en la totalidad del estudio, tanto de manera previa como tras la administración de los compuestos de prueba cuando se tomó el peso corporal. IMC se define como el peso corporal del individuo dividido entre el cuadrado de su altura. SFT es el grosor de una capa doble de piel y la grasa bajo la misma con un calibre especial que ejerce una tensión constante sobre el sitio. IMC, SFT y AC son mediciones relativamente exactas, sencillas y económicas de la composición corporal particularmente indicativas de grasa subcutánea. Los animales tratados con vehículo mostraron IMC, SFT y AC relativamente estables en la totalidad del estudio. Los animales tratados con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) mostraron una disminución de los niveles de IMC, SFT y AC a lo largo del transcurso del estudio de 9 semanas, lo que sugiere que ambos compuestos dieron como resultado una reducción de la masa adiposa. Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) fue más eficaz y dio como resultado reducciones más pronunciadas de IMC, SFT y AC que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). Se muestran los resultados en las figuras 69, 70 y 71, respectivamente.

25.5 Efecto de los compuestos de prueba sobre los niveles de glucemia en estado de ayuno

Se extrajo sangre de animales en estado de ayuno durante la noche. Se llevó a cabo la extracción de sangre semanalmente a los 5 días tras cada inyección. Tanto Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) como Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) redujeron los niveles de glucemia en estado de ayuno. Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) redujo los niveles de glucemia en estado de ayuno a la dosis de 0,3 mg/kg y se logró la reducción de glucosa máxima cuando se aumentó la dosis hasta 1 mg/kg. Sin embargo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) solo dio como resultado una reducción moderada de los niveles de glucemia a la mayor dosis sometida a prueba (3 mg/kg). Por tanto, Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) fue más eficaz y produjo una reducción de la glucemia más pronunciada que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). No se observó hipoglucemia en ninguno de los monos tratados con Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) o Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). La figura 72 muestra los niveles de glucosa en plasma en estado de ayuno durante el transcurso del estudio.

25.6 Efecto de los compuestos de prueba sobre la prueba de tolerancia oral a la glucosa (OGTT)

Se llevaron a cabo OGTT antes y después del inicio de los tratamientos. Se realizaron OGTT tras la dosis cada tres semanas para someter a prueba el efecto del compuesto a cada nivel de dosis. Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) mejoró la tolerancia a la glucosa a todas las dosis sometidas a prueba desde 0,3 hasta 3 mg/kg. Se

redujeron los niveles de glucosa y aumentó la fluctuación de glucosa tras la exposición a un bolo de glucosa en respuesta al tratamiento con Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E). No se observó una respuesta a la dosis, lo que sugiere que Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) logró su máximo efecto a la dosis de 0,3 mg/kg. Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) solo dio como resultado una mejora de tolerancia a la glucosa a la dosis de 1 mg/kg y no estuvo claro por qué disminuyó el efecto cuando se aumentó la dosis hasta 3 mg/kg. La figura 73 muestra los perfiles de curva de manera previa y tras la OGTT y el área bajo la curva de OGTT.

25.7 Efecto de los compuestos de prueba sobre los niveles de triglicéridos

Se extrajo sangre de animales en estado de ayuno durante la noche. Se llevó a cabo la extracción de sangre semanalmente a los 5 días tras cada inyección. Los niveles de triglicéridos se redujeron significativamente en los animales tratados con Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) o Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). Sin embargo, Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) fue más eficaz que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A 18OE) dio como resultado una reducción máxima de los niveles de triglicéridos en plasma a 0,3 mg/kg mientras que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) solo dio como resultado una reducción intermedia de los niveles de triglicéridos con la mayor dosis sometida a prueba (3 mg/kg). La figura 74 muestra los niveles de en estado de ayuno plasma triglicéridos durante el transcurso del estudio.

25.8 Efecto de los compuestos de prueba sobre los niveles de colesterol total y colesterol HDL

Se extrajo sangre de animales en estado de ayuno durante la noche. Se llevó a cabo la extracción de sangre semanalmente a los 5 días tras cada inyección. Los niveles de colesterol total y colesterol HDL en plasma tendieron a aumentar tras el tratamiento con Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) o Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) tratamiento. Las figuras 75 y 76 muestran los niveles de colesterol total y colesterol HDL a lo largo del transcurso del estudio.

25.9 Conclusiones

En un estudio de aumento de la dosis llevado a cabo en macacos cangrejeros macho con IGT, los animales tratados con mutantes de FGF21 conjugado con Fc, concretamente Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G), mostraron parámetros metabólicos mejorados. Se redujo el peso corporal y se mejoró la composición corporal. Se observó una reducción a corto plazo de la ingesta de alimentos y la ingesta de alimentos se recuperó hasta los niveles iniciales o de control a mitad del estudio. También se redujeron los niveles de glucemia y de triglicéridos en estado de ayuno por ambos compuestos, Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) o Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G). Se mejoró la OGTT y se elevaron ligeramente los niveles de colesterol HDL. En comparación con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G), Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) pareció ser superior a Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) en todos los parámetros medidos a cualquier dosis sometida a prueba. Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) logró sus efectos máximos para la mayor parte de los parámetros medidos cuando se administró a 0,3 mg/kg. Por tanto, la dosis terapéutica eficaz de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) en especies superiores puede ser menor de 0,3 mg/kg.

Ejemplo 26

Estudio de estabilidad en macacos cangrejeros

Se diseñó este estudio para determinar si Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:57) era más resistente a proteasas que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43). Se observó procesamiento carboxi-terminal tras la inyección de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) a ratones o monos tal como se muestra en el ejemplo 21. La degradación dio como resultado una pérdida sucesiva de 1 a 3 residuos de aminoácido del extremo C-terminal. Los esfuerzos mediante la adición de una caperuza en el extremo C-terminal o la introducción de mutaciones adicionales en el extremo C-terminal de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) produjeron una molécula superior Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E). Se diseñó este estudio para evaluar si Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) había mejorado la estabilidad *in vivo* en comparación con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G).

Se generaron los constructos Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). Estos constructos comprendían una secuencia de Fc de IgG1 (SEQ ID NO: 11) fusionada en el extremo C-terminal a una secuencia de ligador (Gly)5-Ser-(Gly)3-Ser-(Gly)4-Ser (SEQ ID NO:28) que luego se fusionó con el extremo N-terminal de una secuencia de FGF21 maduro (SEQ ID NO:4), en la que se introdujeron o bien dos mutaciones, L98R, P171G, o bien tres mutaciones, L98R, P171G y A180E. Luego se expresaron estos constructos y se purificaron tal como se describe en el presente documento, y se aislaron como una forma dimérica de la proteína, de la que se ligó cada monómero mediante enlaces disulfuro intermoleculares entre la región Fc de cada monómero.

Se comparó la estabilidad *in vivo* de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) en macacos cangrejeros macho. Se les inyectó por vía intravenosa Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) a macacos cangrejeros a 23,5 mg/kg. Se extrajeron muestras de sangre en diversos puntos de tiempo tras una única inyección i.v. Se usó inmunoafinidad-espectrometría de masas MALDI-TOF para monitorizar los metabolitos en cada punto de tiempo tras la inyección. Se muestran los resultados en la figura 77.

En comparación con Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) mostró degradación C-terminal significativamente reducida con menos picos de masas detectables adyacentes al pico parental de la molécula intacta, lo que sugiere que la mutación A180E ralentizó la degradación por peptidasas C-terminal. También se observaron mayores truncamientos con pérdidas de masa estimadas a [1-376], [1-394] y [1-401] y los sitios correspondían a 133-134, 153-154 y 158-159 en la secuencia de FGF21 de polipéptido. El corte por endopeptidasa interna contribuyó al metabolismo global tanto de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) como de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) y la mutación A180E no pareció tener un impacto significativo sobre la tasa de degradación por endopeptidasa interna.

Para aumentar la resolución y proporcionar detalles de la mezcla de degradación, también se realizó espectrometría de masas CL-EM y MRM (monitorización de reacciones múltiples) para monitorizar diversas formas de los fragmentos de degradación C-terminal. Se purificaron por afinidad muestras de mono y luego se sometieron a digestión con Asp-N. Luego se monitorizaron los péptidos digeridos de manera C-terminal mediante MRM. Se expresan los resultados para diversas formas de los fragmentos de degradación C-terminal como la cantidad relativa con respecto a la especie peptídica de longitud completa (%) mostrada en la figura 78. De manera acorde con los espectros de MALDI, el análisis semicuantitativo mediante MRM de los fragmentos C-terminales también mostró una reducción de la abundancia relativa de los fragmentos peptídicos a los que les faltaban 1-3 aminoácidos del extremo C-terminal y un aumento de la abundancia relativa de la molécula intacta en monos a los que se les administró Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) en comparación con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G).

En resumen, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) mostró degradación C-terminal reducida y estabilidad *in vivo* potenciada en comparación con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) en macacos cangrejeros.

Ejemplo 27

Farmacocinética de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) en ratones

Se diseñó este estudio para evaluar la farmacocinética de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:57) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43) tras una única dosis intravenosa a ratones C57BL/6 macho.

Se administraron Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) a 20 mg/kg a través de inyección intravenosa. Se extrajeron muestras de sangre a las 0,083 (5 minutos), 1, 4, 8, 16, 24, 48, 72, 96, 168 y 240 horas tras la dosificación. Para determinar las concentraciones en plasma de la molécula intacta de longitud completa, se desarrolló un ensayo ELISA con la inmunorreactividad dirigida al FGF21 N-terminal y C-terminal. El ensayo sigue la pista de la molécula intacta de longitud completa con contaminaciones insignificantes de otros productos de degradación. Se muestran las concentraciones en plasma de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) intactos a lo largo de un periodo de 240 horas tras la inyección intravenosa en ratones en la figura 79.

Las concentraciones en plasma de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) fueron significativamente mayores que las de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) administrados al mismo nivel de dosis desde 24 hasta 168 horas tras la inyección. Pudo medirse una cantidad significativa de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) a las 168 horas tras la inyección en ratones. Como resultado, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) mostró un aumento de la cobertura de AUC y la semivida circulante en plasma de 2 veces en comparación con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) en ratones. La semivida de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) fue de 16,6 horas y la de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) fue de 9,4 horas. Ambos compuestos estaban por debajo del nivel detectable a las 240 horas tras la dosis.

Ejemplo 28

Generación de mutantes con glicosilación con unión a N para mejorar la solubilidad o disminuir el corte C-terminal para aumentar la semivida

Se diseñaron mutantes de FGF21 y se generaron para crear posibles sitios de glicosilación con unión a N para la expresión en mamíferos con perturbación mínima de la secuencia de aminoácidos nativa. Los mutantes construidos incluyen FGF21 (Y179N, S181T) (SEQ ID NO: 161), FGF21 Y179N (SEQ ID NO:163) y FGF21 P124S (SEQ ID NO: 165).

Se realizó la expresión de los mutantes de manera transitoria en células 293-6E y se sometieron a prueba medios condicionados para determinar la actividad en un ensayo de ELK-luciferasa *in vitro*. Se realizaron ensayos de ELK-luciferasa tal como se describe en el ejemplo 4, con la excepción de que se usaron diluciones en serie de los medios condicionados en vez de diferentes concentraciones de proteínas purificadas.

El análisis de los medios condicionados reveló que no se logró un aumento de la glicosilación en comparación con el tipo silvestre en el sistema de expresión transitoria. La figura 80 muestra los resultados de un ensayo de actividad ELK-luciferasa. Los resultados mostrados en la figura 80 demuestran que el mutante FGF21 P124S no tuvo un impacto adverso sobre la actividad de FGF21 pero que los mutantes FGF21 Y179N y FGF21 (Y179N, S181T), en la ausencia de glicosilación, dieron como resultado una reducción de la actividad sometida a ensayo en el ensayo de ELK-luciferasa.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Belouski, Edward J.
Ellison, Murielle M. Hamburger, Agnes E. Hecht, Randy I.
Li, Yue-Sheng
Michaels, Mark L. Sun, Jeonghoon
Xu, Jing

<120> Mutantes de FGF21 y usos de los mismos

<130> A-1429-WO-PCT2

<160> 165

<170> PatenIn versión 3.5

<210> 1
<211> 630
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(630)

<400> 1

```
atg gac tcg gac gag acc ggg ttc gag cac tca gga ctg tgg gtt tct   48
Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
1               5                  10                  15

gtg ctg gct ggt ctt ctg ctg gga gcc tgc cag gca cac ccc atc cct   96
Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
            20                  25                  30

gac tcc agt cct ctc ctg caa ttc ggg ggc caa gtc cgg cag cgg tac  144
Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
        35                  40                  45

ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc cac ctg gag atc agg  192
Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
    50                  55                  60

gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag agc ccc gaa agt ctc  240
Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
65                  70                  75                  80

ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att caa atc ttg gga gtc  288
Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
                85                  90                  95

aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat ggg gcc ctg tat gga  336
Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
            100                 105                 110

tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc cgg gag ctg ctt ctt  384
Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
        115                 120                 125

gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg  432
```

```
Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
    130                 135                 140

cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac cct gca ccc cga gga        480
His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145                 150                 155                 160

cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc ccc gca ccc ccg gag        528
Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
                165                 170                 175

cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat gtg ggc tcc tcg gac        576
Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
            180                 185                 190

cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga agc ccc agc tac gct        624
Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
        195                 200                 205

tcc tga                                                               630
Ser
```

<210> 2
<211> 209
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 2

```
Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
1               5                  10                  15

Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
            20                  25                  30

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

Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
    50                  55                  60

Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
65                  70                  75                  80

Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
                85                  90                  95

Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
            100                 105                 110

Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
        115                 120                 125

Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
    130                 135                 140

His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145                 150                 155                 160

Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
                165                 170                 175

Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
            180                 185                 190

Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
        195                 200                 205

Ser
```

<210> 3
<211> 546
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(546)

<400> 3

```
cac ccc atc cct gac tcc agt cct ctc ctg caa ttc ggg ggc caa gtc          48
His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
1               5                   10                  15

cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc cac          96
Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
            20                  25                  30

ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag agc         144
Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
        35                  40                  45

ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att caa         192
Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln
    50                  55                  60

atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat ggg         240
Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
65                  70                  75                  80

gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc cgg         288
Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
                85                  90                  95

gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc cac         336
Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
            100                 105                 110

ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac cct         384
Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
        115                 120                 125

gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc ccc         432
Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
    130                 135                 140

gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat gtg         480
Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
145                 150                 155                 160

ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga agc         528
Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser
                165                 170                 175

ccc agc tac gct tcc tga                                                 546
Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 4
<211> 181

<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 4

His	Pro	Ile	Pro	Asp	Ser	Ser	Pro	Leu	Leu	Gln	Phe	Gly	Gly	Gln	Val
1				5					10					15	

Arg	Gln	Arg	Tyr	Leu	Tyr	Thr	Asp	Asp	Ala	Gln	Gln	Thr	Glu	Ala	His
			20					25					30		

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

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

Ile	Leu	Gly	Val	Lys	Thr	Ser	Arg	Phe	Leu	Cys	Gln	Arg	Pro	Asp	Gly
65					70					75					80

Ala	Leu	Tyr	Gly	Ser	Leu	His	Phe	Asp	Pro	Glu	Ala	Cys	Ser	Phe	Arg
				85					90					95	

Glu	Leu	Leu	Leu	Glu	Asp	Gly	Tyr	Asn	Val	Tyr	Gln	Ser	Glu	Ala	His
			100					105					110		

Gly	Leu	Pro	Leu	His	Leu	Pro	Gly	Asn	Lys	Ser	Pro	His	Arg	Asp	Pro
		115					120					125			

Ala	Pro	Arg	Gly	Pro	Ala	Arg	Phe	Leu	Pro	Leu	Pro	Gly	Leu	Pro	Pro
	130					135					140				

Ala	Pro	Pro	Glu	Pro	Pro	Gly	Ile	Leu	Ala	Pro	Gln	Pro	Pro	Asp	Val
145					150					155					160

Gly	Ser	Ser	Asp	Pro	Leu	Ser	Met	Val	Gly	Pro	Ser	Gln	Gly	Arg	Ser
				165					170					175	

Pro	Ser	Tyr	Ala	Ser
			180	

<210> 5
<211> 630
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(630)

<400> 5

```
atg gac tcg gac gag acc ggg ttc gag cac tca gga ctg tgg gtt tct          48
Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
1               5                   10                  15

gtg ctg gct ggt ctt ctg ctg gga gcc tgc cag gca cac ccc atc cct          96
Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
            20                  25                  30

gac tcc agt cct ctc ctg caa ttc ggg ggc caa gtc cgg cag cgg tac         144
Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
        35                  40                  45

ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc cac ctg gag atc agg         192
Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
    50                  55                  60

gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag agc ccc gaa agt ctc         240
Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
65                  70                  75                  80

ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att caa atc ttg gga gtc         288
Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
                85                  90                  95

aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat ggg gcc ctg tat gga         336
Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
            100                 105                 110

tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc cgg gag ctg ctt ctt         384
Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
        115                 120                 125

gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg         432
Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
    130                 135                 140

cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac cct gca ccc cga gga         480
His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145                 150                 155                 160

cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc ccc gca ctc ccg gag         528
Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu
                165                 170                 175

cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat gtg ggc tcc tcg gac         576
Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
            180                 185                 190

cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga agc ccc agc tac gct         624
Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
        195                 200                 205

tcc tga                                                                 630
Ser
```

<210> 6
<211> 209
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 6

```
Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
1               5                  10                  15

Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
            20                  25                  30

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

Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
    50                  55                  60

Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
65                  70                  75                  80

Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
                85                  90                  95

Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
            100                 105                 110

Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
        115                 120                 125

Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
    130                 135                 140

His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145                 150                 155                 160

  Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu
                  165                 170                 175

  Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
              180                 185                 190

  Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
          195                 200                 205

  Ser
```

<210> 7
<211> 546

<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(546)

<400> 7

```
cac ccc atc cct gac tcc agt cct ctc ctg caa ttc ggg ggc caa gtc          48
His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
1               5                   10                  15

cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc cac          96
Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
            20                  25                  30

ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag agc         144
Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
        35                  40                  45

ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att caa         192
Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln
    50                  55                  60

atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat ggg         240
Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
65                  70                  75                  80

gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc cgg         288
Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
                85                  90                  95

gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc cac         336
Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
            100                 105                 110

ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac cct         384
Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
        115                 120                 125

gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc ccc         432
Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro

    130                 135                 140

gca ctc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat gtg         480
Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
145                 150                 155                 160

ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga agc         528
Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser
                165                 170                 175

ccc agc tac gct tcc tga                                                546
Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 8
<211> 181
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 8

```
His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
1               5                  10                  15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
            20                  25                  30

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

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

Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
65                  70                  75                  80

Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
                85                  90                  95

Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
            100                 105                 110

Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
        115                 120                 125

Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
    130                 135                 140

Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
145                 150                 155                 160

Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser

                165                 170                 175

 Pro Ser Tyr Ala Ser
             180
```

<210> 9
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> porción de un polipéptido de FGF21 humano maduro

<400> 9
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu
1 5 10

<210> 10
<211> 681
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(681)

<400> 10

```
gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg ggg          48
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1               5                  10                  15

gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc atg          96
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
            20                  25                  30

atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc cac         144
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
        35                  40                  45

gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg         192
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
    50                  55                  60

cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg tac         240
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65                  70                  75                  80

cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat ggc         288
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
                85                  90                  95

aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc atc         336
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
            100                 105                 110

gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag gtg         384
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
        115                 120                 125
```

```
tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc agc        432
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
    130                 135                 140

ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg gag        480
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145                 150                 155                 160

tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct ccc        528
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
                165                 170                 175

gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc gtg        576
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
            180                 185                 190

gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg atg        624
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
        195                 200                 205

cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg tct        672
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
    210                 215                 220

ccg ggt aaa                                                            681
Pro Gly Lys
225
```

<210> 11
<211> 227
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 11

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Lys
225
```

<210> 12
<211> 40
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador PCR

<400> 12
aggaggaata acatatgcat ccaattccag attcttctcc 40

<210> 13
<211> 33
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador PCR

<400> 13
tagtgagctc gaattcttag gaagcgtagc tgg 33

<210> 14
<211> 41
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador PCR

<400> 14
ggagatatac atatgccaat tccagattct tctccattat t 41

<210> 15
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador PCR

<400> 15
catatgtata tctccttctt aaagttaaac aaaa 34

<210> 16
<211> 34
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> cebador PCR

<400> 16
aaaacaaatt gaaattcttc ctctatatgt atac 34

<210> 17
<211> 63
<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena sentido de una parte de un constructo de expresión de FGF21

<400> 17
ttttgtttaa ctttaagaag gagatataca tatgcatcca attccagatt cttctccatt 60

att 63

<210> 18
<211> 63
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> cadena antisentido de una parte de un constructo de expresión de FGF21

<400> 18
aaaacaaatt gaaattcttc ctctatatgt atacgtaggt taaggtctaa gaagaggtaa 60

taa 63

<210> 19
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador PCR

<400> 19
aggaggaata acatatggac aaaactcaca catg 34

<210> 20
<211> 23
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador PCR

<400> 20
ggatccacca ccaccgctac cac 23

<210> 21
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador PCR

<400> 21
ggtggtggtg gatcccatcc aattccagat tcttctcca 39

<210> 22
<211> 33
<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador PCR

<400> 22
tagtgagctc gaattcttag gaagcgtagc tgg 33

<210> 23
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador PCR

<400> 23
atggtggaac cttcccaggg ccgaagc 27

<210> 24
<211> 30
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador PCR

<400> 24
ggaaggttcc accatgctca gagggtccga 30

<210> 25
<211> 50
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena sentido de una parte de un constructo de expresión de FGF21

<400> 25
ctcctcggac cctctgagca tggtgggacc ttcccagggc cgaagcccca 50

<210> 26
<211> 30
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> cebador PCR

<400> 26
agcctgggag actcgtacca ccttggaagg 30

<210> 27
<211> 50
<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> cadena antisentido de una parte de un constructo de expresión de FGF21

<400> 27

gaggagcctg ggagactcgt accaccctgg aagggtcccg gcttcggggt 50

<210> 28
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Ligador G5SG3SG4S (Ll5)

<400> 28

Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 29

<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> ligador G4

Gly Gly Gly Gly
1

<210> 30
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> ligador G5

<400> 30

Gly Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 31
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> ligador (G4S)3

<400> 31

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 32
<211> 8

<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> G3KG4 ligador

<400> 32
Gly Gly Gly Lys Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 33
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> ligador G3NGSG2

<400> 33
Gly Gly Gly Asn Gly Ser Gly Gly
1 5

<210> 34
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> ligador G3CG4

<400> 34
Gly Gly Gly Cys Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 35
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> ligador GPNG2

<400> 35
Gly Pro Asn Gly Gly
1 5

<210> 36
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21 RG

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 36

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa        48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgt tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc        96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gac ggg acg gtg ggg ggt gct gct gac cag       144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg ggt gtt att       192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg ggt gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat       240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc       288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe

                85                  90                  95

cgt gag cgt ctt ctt gag gac ggt tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc       336
Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgt gac       384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc       432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat       480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg ggt ggt tcc cag ggc cga       528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                           549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 37
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 37

```
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                  10                  15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

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

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

 His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

 Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

 Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

 Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

 Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 38
<211> 546
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21 RGE

<220>

<221> CDS
<222> (1)..(546)

<400> 38

```
cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa gtc          48
His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
1               5                  10                  15

cgg cag cgt tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc cac          96
Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
            20                  25                  30

ctg gag atc agg gag gac ggg acg gtg ggg ggt gct gct gac cag agc         144
Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
        35                  40                  45

ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg ggt gtt att caa         192
Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln
    50                  55                  60

atc ttg ggt gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat ggg         240
Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
65                  70                  75                  80

gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc cgt         288
Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
                85                  90                  95

gag cgt ctt ctt gag gac ggt tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc cac         336
Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
            100                 105                 110

ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgt gac cct         384
Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
        115                 120                 125

gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc ccc         432
Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
    130                 135                 140

gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat gtg         480
Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
145                 150                 155                 160

ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg ggt ggt tcc cag ggc cga agc         528
Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln Gly Arg Ser
                165                 170                 175

ccc agc tac gaa tcc taa                                                546
Pro Ser Tyr Glu Ser
            180
```

<210> 39
<211> 181
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 39

```
His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
1               5                  10                  15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
            20                  25                  30

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

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

Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
65                  70                  75                  80

Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
                85                  90                  95

Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
            100                 105                 110

Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
        115                 120                 125

Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
    130                 135                 140

Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
145                 150                 155                 160

Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln Gly Arg Ser
                165                 170                 175

Pro Ser Tyr Glu Ser
            180
```

<210> 40
<211> 1272
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> WT21-Ll5-Fc

<220>

<221> CDS
<222> (1)..(1272)

<400> 40

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa          48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc          96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag         144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att         192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat         240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc         288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc         336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac         384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125
```

```
cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg cca        432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat        480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga        528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc        576
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
            180                 185                 190

ggt ggt ggt gga tcc gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca        624
Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
        195                 200                 205

cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc        672
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
    210                 215                 220

aag gac acc ctc atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg        720
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
225                 230                 235                 240

gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg        768
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
                245                 250                 255

gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag        816
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
            260                 265                 270

tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag        864
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
        275                 280                 285

gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc        912
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
    290                 295                 300

ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc        960
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
305                 310                 315                 320

cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc       1008
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
                325                 330                 335

aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc       1056
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
            340                 345                 350

gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac       1104
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
        355                 360                 365

aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tat       1152
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
    370                 375                 380
```

```
agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc       1200
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
385                 390                 395                 400

tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag       1248
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
                405                 410                 415

agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa                                      1272
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
            420
```

<210> 41
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 41

```
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                  10                  15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

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

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160
```

```
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
            180                 185                 190

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
        195                 200                 205

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
    210                 215                 220

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
225                 230                 235                 240

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
                245                 250                 255

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
            260                 265                 270

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
        275                 280                 285

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
    290                 295                 300

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
305                 310                 315                 320

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
                325                 330                 335

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
            340                 345                 350

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
        355                 360                 365

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
    370                 375                 380

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
385                 390                 395                 400

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
                405                 410                 415
```

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
420

<210> 42
<211> 1275
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Fe Ll5 RG

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 42

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175
```

```
ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag cgt ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga ggt tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
```

420

<210> 43
<211> 424
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 43

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 44
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-(G4S)3-RG

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 44

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc         576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg         624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg         672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
```

```
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt ggt ggt ggt tcc ggt ggc ggc ggc tct ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt ggc agc cat ccg atc ccg gac tct tct ccg ctg ctg cag ttc ggt        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggt cag gtt cgt cag cgt tac ctg tac acc gac gac gcg cag cag acc        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gag gcg cac ctg gag atc cgt gaa gac ggt acc gtt ggt ggt gcg gcc        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag tct ccg gaa tct ctg ctg cag ctg aaa gcc ctg aaa ccg ggt        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt atc cag atc ctg ggc gtt aaa acc tct cgt ttc ctg tgc cag cgt        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

ccg gac ggc gcc ctg tac ggt tct ctg cac ttc gac ccg gag gcg tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

tct ttt cgt gaa cgt ctg ctc gaa gac ggt tac aac gtt tac cag tct       1056
Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gag gcg cac ggt ctg ccg ctg cac ctg ccg ggt aac aaa tct ccg cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgt gac ccg gcg cca cgt ggt cct gcg cgt ttc ctg cca ctg ccg ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccg cct gcg cct cct gaa ccg cct ggt atc ctg gct ccg cag ccg       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

cca gac gtt ggt tct tct gac ccg ctg tct atg gtt ggt ggc tct cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggt cgt tct ccg tct tac gcc tct taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 45
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 45

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
```

245 250 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
260 265 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
275 280 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 46
<211> 1275
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Fc-(G4S)3-RGE

<220>
<221> CDS

<222> (1)..(1275)

<400> 46

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
```

```
1               5                   10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc         576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg         624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg         672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt ggt agc ggt ggt         720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt ggt tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg         768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgt tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca         816
```

```
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gac ggg acg gtg ggg ggt gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg ggt        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg ggt gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgt gag cgt ctt ctt gag gac ggt tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgt gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg ggt ggt tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gaa tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Glu Ser
            420
```

<210> 47
<211> 424
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 47

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

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

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
```

```
        35                  40                  45

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285
```

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Glu Ser
420

<210> 48
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-WT21

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 48

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
```

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

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg        240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat        288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc        336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag        384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc        432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300
```

```
gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 49
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 49

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335
```

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 50
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-Gl70E

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 50

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95
```

```
ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc        336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag        384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc        432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350
```

```
gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gaa cct tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 51
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 51

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380
```

```
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 52
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-Pl71A

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 52

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140
```

```
agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
```

385 390 395 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga gct tcc cag 1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Ala Ser Gln
405 410 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa 1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 53
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 53
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Ala Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
```

-

420

<210> 54
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-Sl72L

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 54

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc         576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
```

```
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct ctg cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Leu Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 55
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 55

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
245 250 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
260 265 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
275 280 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Leu Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 56

<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-RGE
<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 56

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc         576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg         624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg         672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt ggt ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt         720
```

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

ggt ggt tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgt tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gac ggg acg gtg ggg ggt gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg ggt        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg ggt gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgt gag cgt ctt ctt gag gac ggt tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgt gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg ggt ggt tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gaa tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Glu Ser
            420
```

<210> 57
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 57

Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
245 250 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
260 265 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
275 280 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Glu Ser
420

<210> 58
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-Gl70E Pl71A Sl72L

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 58

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
```

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

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc        144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag        192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg        240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat        288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc        336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag        384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc        432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270
```

```
gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gaa gct ctg cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Ala Leu Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 59
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 59

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300
```

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Ala Leu Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 60
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-Gl51A

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 60

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60
```

```
gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg        240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat        288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc        336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag        384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc        432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320
```

```
cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gca atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Ala Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 61
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 61

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350
```

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Ala Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 62
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-Gl70E Pl71A

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 62

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110
```

```
atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag        384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc        432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
```

```
         355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gaa gct tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Ala Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 63
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 63

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
```

385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Ala Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 64
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-Pl50A Gl51A Il52V

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 64

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
```

```
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct      528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc      576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg      624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg      672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt      720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg      768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca      816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct      864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga      912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg      960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc     1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc     1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac     1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc     1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca gcc gca gtt ctg gcc ccc cag ccc     1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Ala Ala Val Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag     1248
```

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln
405 410 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa **1275**
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 65
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 65

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
```

```
            180                 185                 190

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Ala Ala Val Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 66
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-Gl70E Sl72L

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 66

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc         576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg         624
```

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

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gaa cct ctg cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Leu Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 67
<211> 424

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 67

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
245 250 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
260 265 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
275 280 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Leu Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 68
<211> 1275
<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-Gl70A

<220>
<221> CDS

<222> (1)..(1275)

<400> 68

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc         576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg         624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg         672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt         720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240
```

```
ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gct cct tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Ala Pro Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 69
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 69

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270
```

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
275 280 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Ala Pro Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 70
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-Gl70C

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 70

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30
```

```
atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc        144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag        192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg        240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat        288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc        336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag        384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc        432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285
```

```
gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg tgc cct tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Cys Pro Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 71
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 71

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320
```

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Cys Pro Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 72
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-Gl70D

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 72

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80
```

```
tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat        288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc        336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag        384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc        432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
```

```
                    325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gac cct tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Asp Pro Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 73
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 73

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
```

355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Asp Pro Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 74
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-Gl70N

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 74

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
```

```
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc        432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
```

```
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc      1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg aac cct tcc cag      1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Asn Pro Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                 1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 75
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 75

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

```
145                 150                 155                 160

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400
```

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Asn Pro Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 76
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-Gl70S

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 76

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
```

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

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg tcc cct tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Ser Pro Ser Gln
                405                 410                 415
```

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa **1275**
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 77
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 77

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

```
Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Ser Pro Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 78
<211> 1275
<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-Pl71E

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 78

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc         576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg         624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205
```

```
atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga gaa tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Glu Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 79
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Constructo sintético

<400> 79

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240
```

```
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Glu Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 80
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-Pl71H

<220>

<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 80

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc         576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg         624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg         672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt         720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg         768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255
```

```
ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cac tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly His Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 81
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 81

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285
```

```
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly His Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 82
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-P171Q

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 82

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45
```

```
cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag        192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg        240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat        288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc        336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag        384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc        432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
```

```
     290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cag tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gln Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 83
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 83

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
```

325 330 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gln Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 84
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-Pl71T

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 84

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
```

```
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc        336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag        384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc        432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
```

```
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac      1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc      1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc      1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga act tcc cag      1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Thr Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                 1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 85
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 85

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

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

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

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

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

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

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

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
```

```
        115                 120                 125

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365
```

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Thr Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 86
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-Pl71Y

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 86

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
```

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

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380
```

```
ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga tac tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Tyr Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 87
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 87

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Tyr Ser Gln
                405                 410                 415
```

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 88
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-Pl71G

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 88

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175
```

```
ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga ggt tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 89
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 89

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 90
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Fc-Ll5-Pl71S

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 90

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc         576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg         624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg         672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220
```

```
tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga tct tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Ser Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 91
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 91

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255
```

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
260 265 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
275 280 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Ser Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 92
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-Pl71W

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 92

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15
```

```
ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc         576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg         624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg         672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt         720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg         768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca         816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
```

```
                260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga tgg tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Trp Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 93
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 93

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
```

290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Trp Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 94
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-P171C

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 94

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
```

```
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg        240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat        288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc        336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag        384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc        432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
```

```
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc      1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc      1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac      1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc      1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc      1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga tgc tcc cag      1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Cys Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                 1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 95
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 95

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

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

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

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

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

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
```

```
                85                  90                  95

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335
```

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Cys Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 96
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-A45K Gl70E

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 96

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
```

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

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag        384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc        432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct aaa        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Lys
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350
```

```
gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gaa cct tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 97
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 97

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Lys
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380
```

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 98
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21 A45K

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 98

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa          48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc          96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct aaa gac cag         144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Lys Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att         192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat         240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc         288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc         336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac         384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc         432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat         480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga         528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                            549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 99
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 99

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Lys Asp Gln
35 40 45

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

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 100
<211> 1260
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-L15-FGF21 6-181 Gl70E

<220>
<221> CDS

<222> (1)..(1260)

<400> 100

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
```

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

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc tct tct cca tta tta caa ttc ggt ggt caa gtc cgg cag        768
Gly Gly Ser Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln
                245                 250                 255

cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc cac ctg gag        816
Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu
            260                 265                 270

atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag agc ccc gaa        864
Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu
        275                 280                 285

agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att caa atc ttg        912
Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu
    290                 295                 300

gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat ggg gcc ctg        960
Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu
305                 310                 315                 320

tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc cgg gag ctg       1008
Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu
                325                 330                 335

ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc cac ggc ctc       1056
Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu
            340                 345                 350

ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac cct gca ccc       1104
Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro
        355                 360                 365

cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc ccc gca ccc       1152
Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro
    370                 375                 380

ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat gtg ggc tcc       1200
Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser
385                 390                 395                 400

tcg gac cct ctg agc atg gtg gaa cct tcc cag ggc cga agc ccc agc       1248
Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser
                405                 410                 415
```

tac gct tcc taa 1260
Tyr Ala Ser

<210> 101
<211> 419
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 101

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

```
Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln
                245                 250                 255

Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu
            260                 265                 270

Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu
        275                 280                 285

Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu
    290                 295                 300

Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu
305                 310                 315                 320

Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu
                325                 330                 335

Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu
            340                 345                 350

Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro
        355                 360                 365

Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro
    370                 375                 380

Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser
385                 390                 395                 400

Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser
                405                 410                 415

Tyr Ala Ser
```

<210> 102
<211> 1275
<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-A45K Pl71G

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 102

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc         576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg         624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205
```

```
atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct aaa        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Lys
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga ggt tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 103
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Constructo sintético

<400> 103

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240
```

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
245 250 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
260 265 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Lys
275 280 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 104
<211> 1320
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21-(G3)-Fc; secuencia de señal 28 AA eliminada durante el tratamiento

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1320)

<400> 104

```
atg gac tcg gac gag acc ggg ttc gag cac tca gga ctg tgg gtt tct          48
Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
1               5                  10                  15

gtg ctg gct ggt ctt ctg ctg gga gcc tgc cag gca cac ccc atc cct          96
Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
            20                  25                  30

gac tcc agt cct ctc ctg caa ttc ggg ggc caa gtc cgg cag cgg tac         144
Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
        35                  40                  45

ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc cac ctg gag atc agg         192
Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
    50                  55                  60

gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag agc ccc gaa agt ctc         240
Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
65                  70                  75                  80

ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att caa atc ttg gga gtc         288
Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
                85                  90                  95

aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat ggg gcc ctg tat gga         336
Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
            100                 105                 110

tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc cgg gag ctg ctt ctt         384
Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
        115                 120                 125

gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg         432
Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
    130                 135                 140

cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac cct gca ccc cga gga         480
His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145                 150                 155                 160

cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg cca ccc gca ccc ccg gag         528
Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
                165                 170                 175

cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat gtg ggc tcc tcg gac         576
Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
            180                 185                 190

cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga agc ccc agc tac gct         624
Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
        195                 200                 205

tcc ggt gga ggt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct         672
Ser Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
    210                 215                 220

gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag         720
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
225                 230                 235                 240

gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg         768
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
                245                 250                 255
```

```
gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac        816
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
            260                 265                 270

ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac        864
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
        275                 280                 285

aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac        912
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
    290                 295                 300

tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc        960
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
305                 310                 315                 320

cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga       1008
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
                325                 330                 335

gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag       1056
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
            340                 345                 350

aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac       1104
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
        355                 360                 365

atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag       1152
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
    370                 375                 380

acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tat agc       1200
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
385                 390                 395                 400

aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca       1248
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
                405                 410                 415

tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc       1296
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
            420                 425                 430

ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa tga                                      1320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
        435
```

<210> 105
<211> 439
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 105

```
Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
1               5                   10                  15
```

```
Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
            20                  25                  30

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

Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
    50                  55                  60

Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
65                  70                  75                  80

Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
                85                  90                  95

Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
            100                 105                 110

Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
        115                 120                 125

Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
    130                 135                 140

His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145                 150                 155                 160

Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
                165                 170                 175

Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
            180                 185                 190

Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
        195                 200                 205

Ser Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
    210                 215                 220

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
225                 230                 235                 240

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
                245                 250                 255

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
            260                 265                 270
```

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
275 280 285

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
290 295 300

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
305 310 315 320

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
325 330 335

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
340 345 350

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
355 360 365

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
370 375 380

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
385 390 395 400

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
405 410 415

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
420 425 430

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435

<210> 106
<211> 1245
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-G5-FGF21

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1245)

<400> 106

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15
```

```
ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc         576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg         624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg         672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt ggc gga ggg ggt cat cca att cca gat tct tct         720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly His Pro Ile Pro Asp Ser Ser
225                 230                 235                 240

cca tta tta caa ttc ggg ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca         768
Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr
                245                 250                 255

gat gat gcc cag cag aca gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg         816
Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly
```

```
                260                 265                 270

acg gtg ggg ggc gct gct gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg        864
Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu
        275                 280                 285

aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc        912
Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser
    290                 295                 300

agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac        960
Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His
305                 310                 315                 320

ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga       1008
Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly
                325                 330                 335

tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca       1056
Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro
            340                 345                 350

ggg aac aag tcc cca cac cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc       1104
Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg
        355                 360                 365

ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga       1152
Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly
    370                 375                 380

atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc       1200
Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser
385                 390                 395                 400

atg gtg gga cct tcc cag ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa           1245
Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
                405                 410
```

<210> 107
<211> 414
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 107

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly His Pro Ile Pro Asp Ser Ser
225                 230                 235                 240

Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr
                245                 250                 255

Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly
            260                 265                 270

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

Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser
    290                 295                 300

Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His
```

305 310 315 320

Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly
325 330 335

Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro
340 345 350

Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg
355 360 365

Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly
370 375 380

Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser
385 390 395 400

Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
405 410

<210> 108
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21 L99R

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 108

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa          48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc          96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag         144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att         192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat         240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc         288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg cgt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc         336
Arg Glu Leu Arg Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac         384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc         432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat         480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga         528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                            549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 109
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 109

```
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                  10                  15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

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

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

Arg Glu Leu Arg Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 110
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21 L99D

<220>
<221> CDS

<222> (1)..(549)

<400> 110

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa          48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc          96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag         144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att         192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat         240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc         288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg gac ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc         336
Arg Glu Leu Asp Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac         384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc         432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat         480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga         528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                            549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 111
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 111

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

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

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Asp Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 112
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21 A111T

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 112

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa   48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                  10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc   96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag  144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att  192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat  240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc  288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa acc  336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Thr
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac  384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc  432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat  480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga  528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                     549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 113
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 113

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

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

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Thr
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 114
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21 A129D

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 114

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa          48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc          96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag         144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att         192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat         240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc         288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc         336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac         384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gac ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc         432
Pro Asp Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat         480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga         528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                            549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 115
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 115

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

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

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Asp Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 116
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21 A129Q

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 116

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa          48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc          96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag         144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att         192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat         240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc         288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc         336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac         384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct cag ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc         432
Pro Gln Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat         480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga         528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg

                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                            549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 117
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 117

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

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

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Gln Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 118
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21 Al34K

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 118

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa          48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc          96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag         144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att         192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat         240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc         288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc         336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac         384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca aaa cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc         432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Lys Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat         480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga         528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                             549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 119
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 119

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

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

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Lys Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 120
<211> 549

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21 Al34Y

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 120

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa          48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc          96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag         144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att         192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat         240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc         288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc         336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac         384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca tat cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc         432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Tyr Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat         480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga         528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                            549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 121
<211> 182

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 121

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

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

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Tyr Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 122
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21 Al34E

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 122

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa          48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc          96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag         144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att         192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat         240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc         288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc         336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac         384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gaa cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc         432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Glu Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat         480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga         528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                             549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 123
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 123

```
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                  10                  15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

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

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Glu Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 124
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21 Al29K

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 124

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa          48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc          96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag         144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att         192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat         240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc         288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc         336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac         384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct aaa ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc         432
Pro Lys Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat         480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga         528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                             549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 125
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 125

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

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

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Lys Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 126
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> FGF21 P78C

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 126

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa        48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc        96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag       144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att       192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg tgc gat       240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Cys Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc       288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc       336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac       384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc       432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat       480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga       528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                           549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 127
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Constructo sintético

<400> 127

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

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

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Cys Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 128
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21 P78R

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 128

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa          48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc          96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag         144


His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att         192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cgt gat         240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Arg Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc         288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc         336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac         384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc         432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat         480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga         528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                             549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 129
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Constructo sintético

<400> 129

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

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

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Arg Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 130
<211> 549
<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21 L86T

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 130

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa        48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                  10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc        96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag       144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att       192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile

    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat       240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg acc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc       288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Thr His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc       336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac       384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc       432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat       480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga       528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                          549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 131
<211> 182

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 131

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

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

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Thr His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 132
<211> 549

<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21 L86C

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 132

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa          48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                  10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc          96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag         144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att         192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat         240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg tgc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc         288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Cys His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc         336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac         384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc         432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat         480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga         528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                            549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 133
<211> 182
<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 133

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

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

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Cys His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 134
<211> 549

<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21 L98C

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 134

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa          48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc          96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag         144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att         192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat         240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc         288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag tgc ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc         336
Arg Glu Cys Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac         384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc         432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat         480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga         528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                            549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 135
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 135

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

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

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Cys Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 136
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21 L98R

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 136

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa          48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc          96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag         144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att         192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat         240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc         288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag cgt ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc         336
Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac         384

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc         432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat         480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga         528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                             549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 137
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Constructo sintético

<400> 137

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

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

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro

130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 138
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21 L52T

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 138

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa          48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc          96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag         144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt acc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att         192
Ser Pro Glu Ser Thr Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat         240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc         288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc         336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac         384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc         432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat         480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga         528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                            549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 139
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 139

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

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

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 140
<211> 549
<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21 L58E

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 140

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa          48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc          96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag         144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc gaa aag ccg gga gtt att         192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Glu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat         240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc         288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc         336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac         384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc         432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat         480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

 gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga         528
 Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

 agc ccc agc tac gct tcc taa                                            549
 Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
             180
```

<210> 141
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 141

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

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

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 142
<211> 1278

<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-L98R Pl71G 182P

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1278)

<400> 142

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175
```

```
ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag cgt ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga ggt tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc ccg taa                              1278
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Pro
            420                 425
```

<210> 143
<211> 425
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 143

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Pro
            420                 425
```

<210> 144
<211> 1278
<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Fc-Ll5-L98R Pl71G 182G

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1278)

<400> 144

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc         576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg         624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg         672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220
```

```
tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag cgt ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga ggt tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc ggc taa                              1278
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Gly
            420                 425
```

<210> 145
<211> 425
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 145

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255
```

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
260 265 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
275 280 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Gly
420 425

<210> 146
<211> 1281
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-L98R Pl71G 182G 183G

<220>
<221> CDS

<222> (1)..(1281)

<400> 146

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15
```

```
ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc         576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg         624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg         672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt         720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg         768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca         816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
```

```
                260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag cgt ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga ggt tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc ggt ggc taa                          1281
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Gly Gly
            420                 425
```

<210> 147
<211> 426
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 147

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
```

290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Gly Gly
420 425

<210> 148
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-L98R Pl71G Yl79S

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 148

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
```

```
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg        240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat        288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc        336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag        384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc        432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
```

```
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag cgt ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga ggt tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tcc gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Ser Ala Ser
            420
```

<210> 149
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 149

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

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

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

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

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

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
```

```
                85                  90                  95

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335
```

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Ser Ala Ser
420

<210> 150
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-L98R Pl71G Yl79F

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 150

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
```

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

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag        384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc        432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag cgt ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350
```

```
gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga ggt tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc ttc gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Phe Ala Ser
            420
```

<210> 151
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 151

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380
```

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Phe Ala Ser
420

<210> 152
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-L98R Pl71G Yl79A

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 152

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140
```

```
agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag cgt ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400
```

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga ggt tcc cag 1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
405 410 415

ggc cga agc ccc agc gct gct tcc taa 1275
Gly Arg Ser Pro Ser Ala Ala Ser
420

<210> 153
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 153

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Ala Ala Ser
            420
```

<210> 154
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-L98R Pl71G AlBOS

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 154

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc         576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190
```

```
gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag cgt ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga ggt tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac tcc tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ser Ser
            420
```

<210> 155
<211> 424

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 155

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
245 250 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
260 265 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
275 280 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ser Ser
420

<210> 156
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fc-Ll5-L98R Pl71G Al80G

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 156

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc         576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg         624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg         672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt         720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
```

```
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag cgt ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga ggt tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac ggt tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Gly Ser
            420
```

<210> 157
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 157

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys 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 Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
```

260 265 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
275 280 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Gly Ser
420

<210> 158
<211> 1287
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> MKEDD-FGF21-(Ll5)-Fc

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1287)

<400> 158

```
atg aaa gaa gat gat cac cca att cca gat tct tct cca tta tta caa          48
Met Lys Glu Asp Asp His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln
1               5                   10                  15

ttc ggg ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag          96
Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln
```

```
            20                  25                  30

cag aca gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc        144
Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly
        35                  40                  45

gct gct gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag        192
Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys
    50                  55                  60

ccg gga gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc        240
Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys
65                  70                  75                  80

cag cgg cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag        288
Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu
                85                  90                  95

gcc tgc agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac        336
Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
            100                 105                 110

cag tcc gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc        384
Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser
        115                 120                 125

cca cac cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta        432
Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu
    130                 135                 140

cca ggc ctg cca ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc        480
Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro
145                 150                 155                 160

cag ccc ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct        528
Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro
                165                 170                 175

tcc cag ggc cga agc ccc agc tac gct tcc ggt gga ggt ggt ggt tct        576
Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser
            180                 185                 190

ggt ggt ggt agc ggt ggt ggt gga tcc gac aaa act cac aca tgc cca        624
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
        195                 200                 205

ccg tgc cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc        672
Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
    210                 215                 220

ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgt acc cct gag gtc        720
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
225                 230                 235                 240

aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc        768
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
                245                 250                 255

aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg        816
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
            260                 265                 270

cgt gag gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc        864
```

```
Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
        275                 280                 285

gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc  912
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
    290                 295                 300

tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc  960
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
305                 310                 315                 320

aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg 1008
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
                325                 330                 335

gat gag ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc 1056
Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
            340                 345                 350

ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg 1104
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
        355                 360                 365

gag aac aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc 1152
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
    370                 375                 380

ttc ttc ctc tat agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag 1200
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
385                 390                 395                 400

ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac 1248
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
                405                 410                 415

tac acg cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa taa              1287
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
            420                 425
```

<210> 159
<211> 428
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 159

```
Met Lys Glu Asp Asp His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln
1               5                  10                  15

Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln
            20                  25                  30

Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly
        35                  40                  45

Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys
```

```
    50                  55                  60

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

Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu
                85                  90                  95

Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
            100                 105                 110

Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser
        115                 120                 125

Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu
    130                 135                 140

Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro
145                 150                 155                 160

Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro
                165                 170                 175

Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser
            180                 185                 190

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
        195                 200                 205

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
    210                 215                 220

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
225                 230                 235                 240

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
                245                 250                 255

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
            260                 265                 270

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
        275                 280                 285

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
    290                 295                 300
```

```
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
305                 310                 315                 320

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
                325                 330                 335

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
            340                 345                 350

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
        355                 360                 365

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
    370                 375                 380

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
385                 390                 395                 400

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
                405                 410                 415

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
            420                 425
```

<210> 160
<211> 630
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21 Y179N S181T, secuencia de señal 28AA eliminada durante el tratamiento

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(630)

<400> 160

```
atg gac tcg gac gag acc ggg ttc gag cac tca gga ctg tgg gtt tct        48
Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
1               5                   10                  15

gtg ctg gct ggt ctt ctg ctg gga gcc tgc cag gca cac ccc atc cct        96
Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
            20                  25                  30

gac tcc agt cct ctc ctg caa ttc ggg ggc caa gtc cgg cag cgg tac       144
Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
        35                  40                  45

ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc cac ctg gag atc agg       192
Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
    50                  55                  60

gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag agc ccc gaa agt ctc       240


Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
65                  70                  75                  80

ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att caa atc ttg gga gtc       288
Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
                85                  90                  95

aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat ggg gcc ctg tat gga       336
Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
            100                 105                 110

tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc cgg gag ctg ctt ctt       384
Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
        115                 120                 125

gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg       432
Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
    130                 135                 140

cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac cct gca ccc cga gga       480
His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145                 150                 155                 160

cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg cca ccc gca ccc ccg gag       528
Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
                165                 170                 175

cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat gtg ggc tcc tcg gac       576
Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
            180                 185                 190

cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga agc ccc agc aac gct       624
Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Asn Ala
        195                 200                 205

acc tga                                                               630
Thr
```

<210> 161
<211> 209
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 161

Met	Asp	Ser	Asp	Glu	Thr	Gly	Phe	Glu	His	Ser	Gly	Leu	Trp	Val	Ser
1				5					10					15	

Val	Leu	Ala	Gly	Leu	Leu	Leu	Gly	Ala	Cys	Gln	Ala	His	Pro	Ile	Pro
			20					25					30		

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

Leu	Tyr	Thr	Asp	Asp	Ala	Gln	Gln	Thr	Glu	Ala	His	Leu	Glu	Ile	Arg

50 55 60

Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
65 70 75 80

Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
85 90 95

Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
100 105 110

Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
115 120 125

Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
130 135 140

His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145 150 155 160

Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
165 170 175

Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
180 185 190

Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Asn Ala
195 200 205

Thr

<210> 162
<211> 630
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21 Yl79N, secuencia de señal 28 AA eliminada durante el tratamiento

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(630)

<400> 162

```
atg gac tcg gac gag acc ggg ttc gag cac tca gga ctg tgg gtt tct        48
Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
1               5                  10                  15

gtg ctg gct ggt ctt ctg ctg gga gcc tgc cag gca cac ccc atc cct        96
Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro

            20                  25                  30

gac tcc agt cct ctc ctg caa ttc ggg ggc caa gtc cgg cag cgg tac       144
Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
        35                  40                  45

ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc cac ctg gag atc agg       192
Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
    50                  55                  60

gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag agc ccc gaa agt ctc       240
Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
65                  70                  75                  80

ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att caa atc ttg gga gtc       288
Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
                85                  90                  95

aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat ggg gcc ctg tat gga       336
Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
            100                 105                 110

tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc cgg gag ctg ctt ctt       384
Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
        115                 120                 125

gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg       432
Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
    130                 135                 140

cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac cct gca ccc cga gga       480
His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145                 150                 155                 160

cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg cca ccc gca ccc ccg gag       528
Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
                165                 170                 175

cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat gtg ggc tcc tcg gac       576
Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
            180                 185                 190

cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga agc ccc agc aac gct       624
Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Asn Ala
        195                 200                 205

tcc tga                                                              630
Ser
```

<210> 163
<211> 209
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 163

Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
1 5 10 15

```
Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
            20                  25                  30

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

Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
    50                  55                  60

Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
65                  70                  75                  80

Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
                85                  90                  95

Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
            100                 105                 110

Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
        115                 120                 125

Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
    130                 135                 140

His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145                 150                 155                 160

Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
                165                 170                 175

Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
            180                 185                 190

Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Asn Ala
        195                 200                 205

Ser
```

<210> 164
<211> 630
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FGF21 Pl24S, secuencia de señal 28 AA eliminada durante el tratamiento

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(630)

<400> 164

```
atg gac tcg gac gag acc ggg ttc gag cac tca gga ctg tgg gtt tct          48
Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
1               5                   10                  15

gtg ctg gct ggt ctt ctg ctg gga gcc tgc cag gca cac ccc atc cct          96
Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
            20                  25                  30

gac tcc agt cct ctc ctg caa ttc ggg ggc caa gtc cgg cag cgg tac         144
Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
        35                  40                  45

ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc cac ctg gag atc agg         192
Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
    50                  55                  60

gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag agc ccc gaa agt ctc         240
Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
65                  70                  75                  80

ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att caa atc ttg gga gtc         288
Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
                85                  90                  95

aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat ggg gcc ctg tat gga         336
Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
            100                 105                 110

tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc cgg gag ctg ctt ctt         384
Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
        115                 120                 125

gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg         432
Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
    130                 135                 140

cac ctg cca ggg aac aag tcc tca cac cgg gac cct gca ccc cga gga         480
His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Ser His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145                 150                 155                 160

cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg cca ccc gca ccc ccg gag         528
Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
                165                 170                 175

cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat gtg ggc tcc tcg gac         576
Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
            180                 185                 190

cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga agc ccc agc tac gct         624
Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
        195                 200                 205

tcc tga                                                                 630
Ser
```

<210> 165

<211> 209
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Constructo sintético

<400> 165

```
Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
1               5                  10                  15

Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
            20                  25                  30

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

Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
    50                  55                  60

Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
65                  70                  75                  80

Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
                85                  90                  95

Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
            100                 105                 110

Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
        115                 120                 125

Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
    130                 135                 140

His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Ser His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145                 150                 155                 160

Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
                165                 170                 175

Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
            180                 185                 190

Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
        195                 200                 205

Ser
```

REIVINDICACIONES

1. Polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, en el que:

(a) el residuo en la posición 180 es ácido glutámico;

(b) el residuo en la posición 171 es glicina; y

(c) el residuo en la posición 98 es arginina,

y en el que el polipéptido puede disminuir los niveles de glucemia en un mamífero.

2. Polipéptido según la reivindicación 1, que comprende además:

(d) una secuencia de ligador que comprende SEQ ID NO:31; y

(e) un dominio de Fc que comprende SEQ ID NO: 11

3. Polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, en el que:

(a) el residuo en la posición 180 es ácido glutámico;

(b) el residuo en la posición 171 es glicina; y

(c) el residuo en la posición 98 es arginina,

4. Polipéptido según la reivindicación 3, que comprende además.

(d) una secuencia de ligador que comprende SEQ ID NO:31; y

(e) un dominio de Fc que comprende SEQ ID NO: 11

5. Polipéptido que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 47, o codificado por la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO:46

6. Composición farmacéutica que comprende el polipéptido según la reivindicación 2, 4 ó 5 y un agente de formulación farmacéuticamente aceptable.

7. Composición farmacéutica según la reivindicación 6, en el que el agente de formulación farmacéuticamente aceptable es un hidrogel.

8. Composición farmacéutica según la reivindicación 6 ó 7, para su uso en un método de tratamiento de un trastorno metabólico.

9. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 7 u 8, en el que el trastorno metabólico es diabetes tipo 2.

10. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 7 u 8, en el que el trastorno metabólico es obesidad.

11. Ácido nucleico que codifica para el polipéptido según la reivindicación 2 ó 4.

12. Ácido nucleico según la reivindicación 11, en el que el ácido nucleico comprende SEQ ID NO:46.

13. Vector que comprende la molécula de ácido nucleico según la reivindicación 11 ó 12.

14. Célula huésped que comprende la molécula de ácido nucleico según la reivindicación 11 ó 12.

15. Polipéptido aislado según la reivindicación 1 ó 2, en el que

(i) el polipéptido de SEQ ID NO:4 comprende:

(a) un truncamiento amino-terminal de no más de 8 residuos de aminoácido, en el que el polipéptido puede disminuir la glucemia en un mamífero;

(b) un truncamiento carboxi-terminal de no más de 12 residuos de aminoácido, en el que el polipéptido puede disminuir la glucemia en un mamífero; o

(c) un truncamiento amino-terminal de no más de 8 residuos de aminoácido y un truncamiento carboxi-terminal de no más de 12 residuos de aminoácido, en el que el polipéptido puede disminuir la glucemia en un mamífero, o

(ii) el polipéptido se une covalentemente a uno o más polímeros; preferiblemente el polímero es PEG.

FIG. 1A

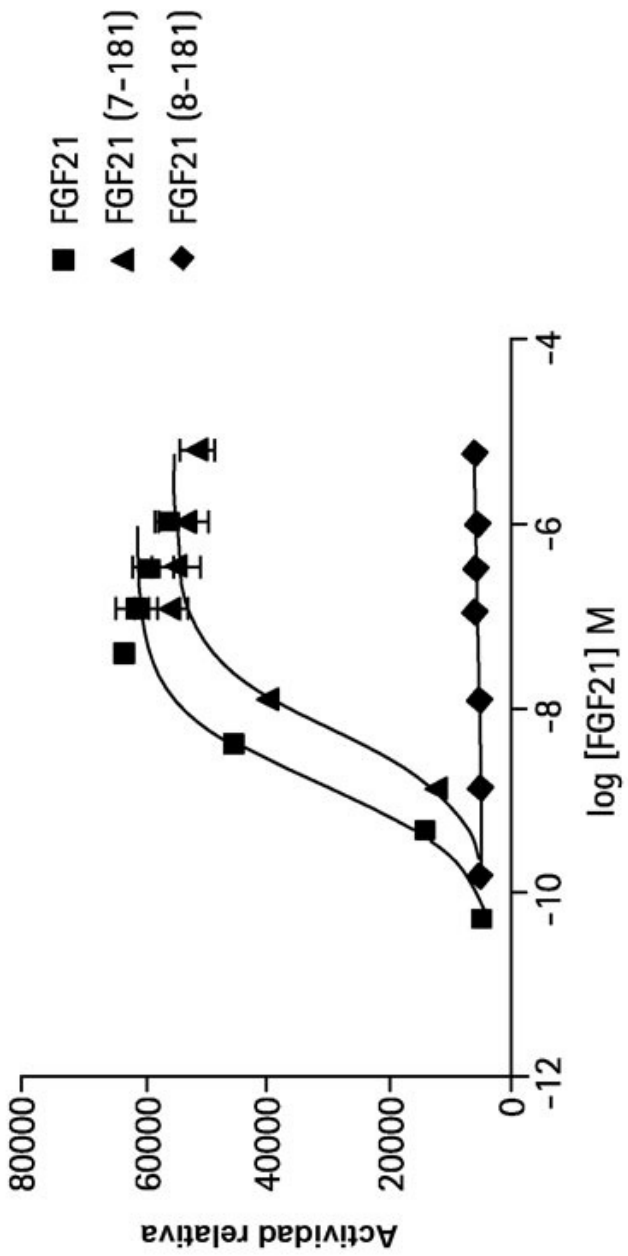

FGF21
FGF21 (7-181)
FGF21 (8-181)
Actividad relativa
80000
60000
40000
20000
0
-12
-10
-8
-6
-4
log [FGF21] M

FIG. 1B

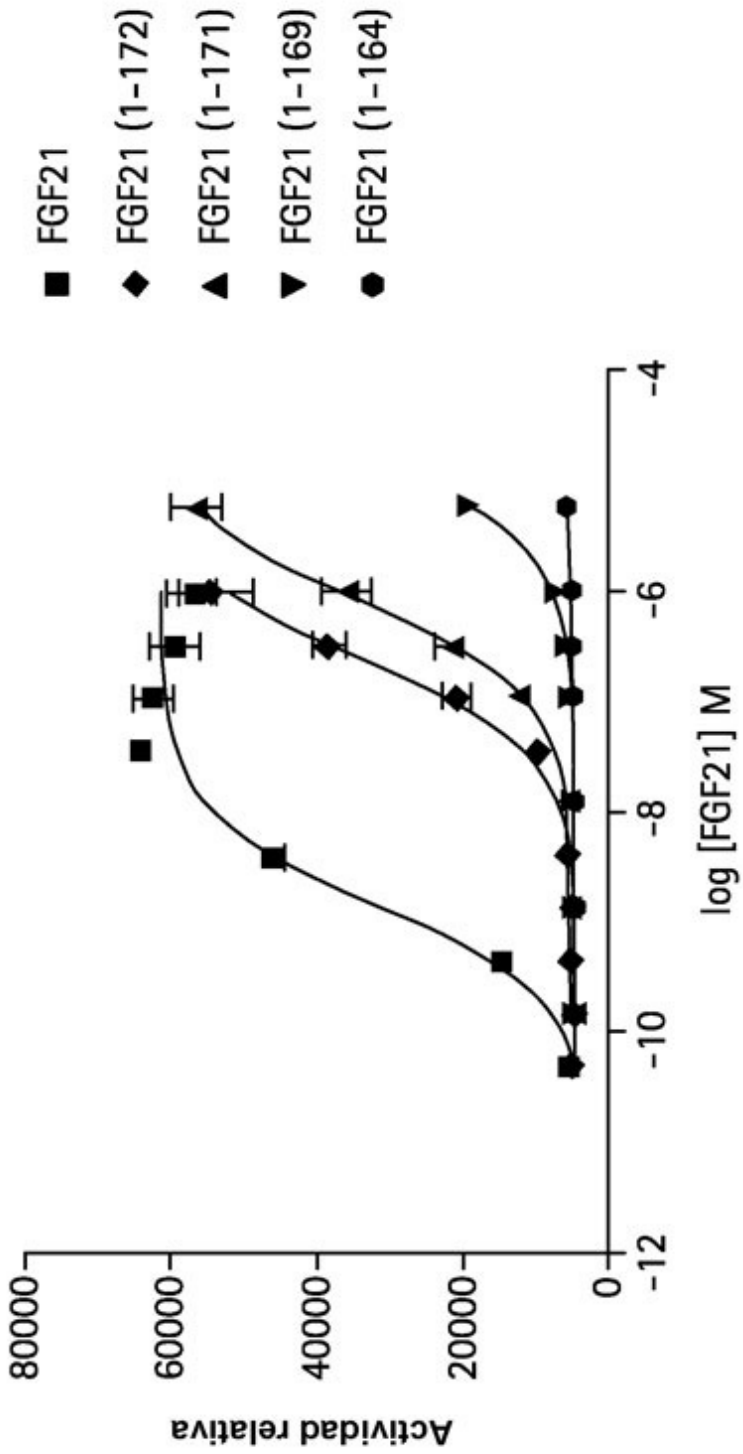

FGF21
FGF21 (1-172)
FGF21 (1-171)
FGF21 (1-169)
FGF21 (1-164)
Actividad relativa
80000
60000
40000
20000
0
-12
-10
-8
-6
-4
log [FGF21] M

FIG. 2

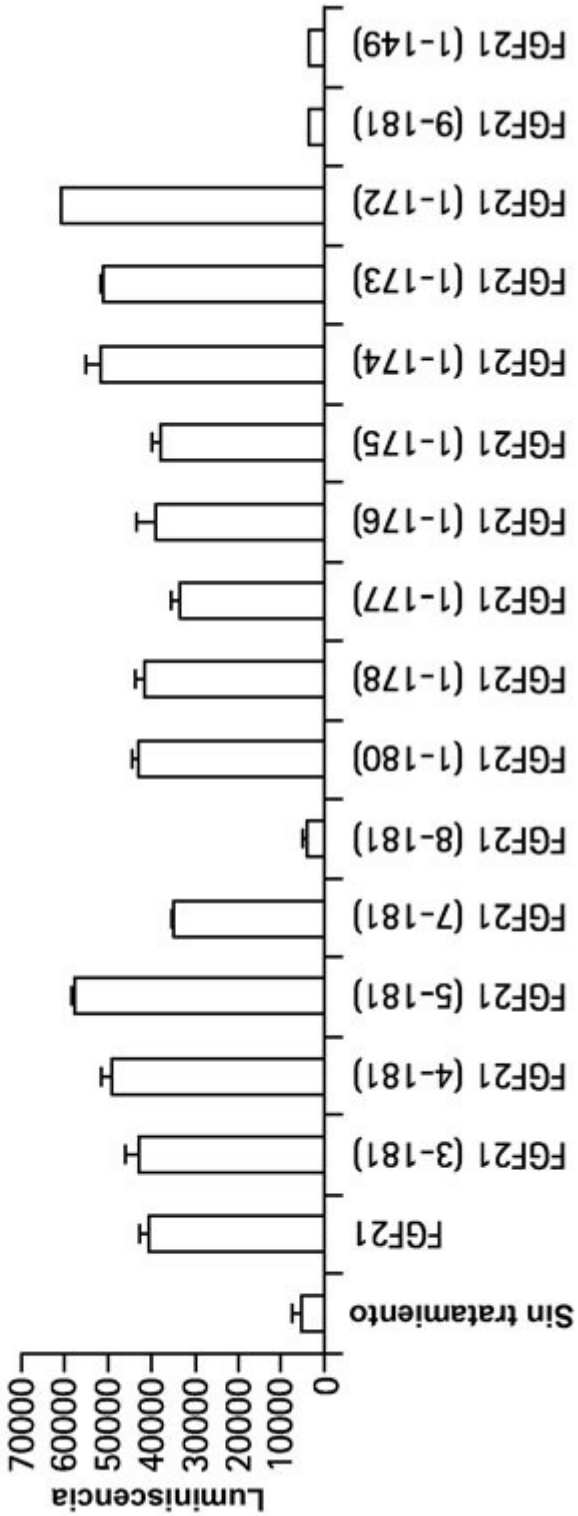

Luminiscencia
70000
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
Sin tratamiento
FGF21
FGF21 (3-181)
FGF21 (4-181)
FGF21 (5-181)
FGF21 (7-181)
FGF21 (8-181)
FGF21 (1-180)
FGF21 (1-178)
FGF21 (1-177)
FGF21 (1-176)
FGF21 (1-175)
FGF21 (1-174)
FGF21 (1-173)
FGF21 (1-172)
FGF21 (9-181)
FGF21 (1-149)

FIG. 3

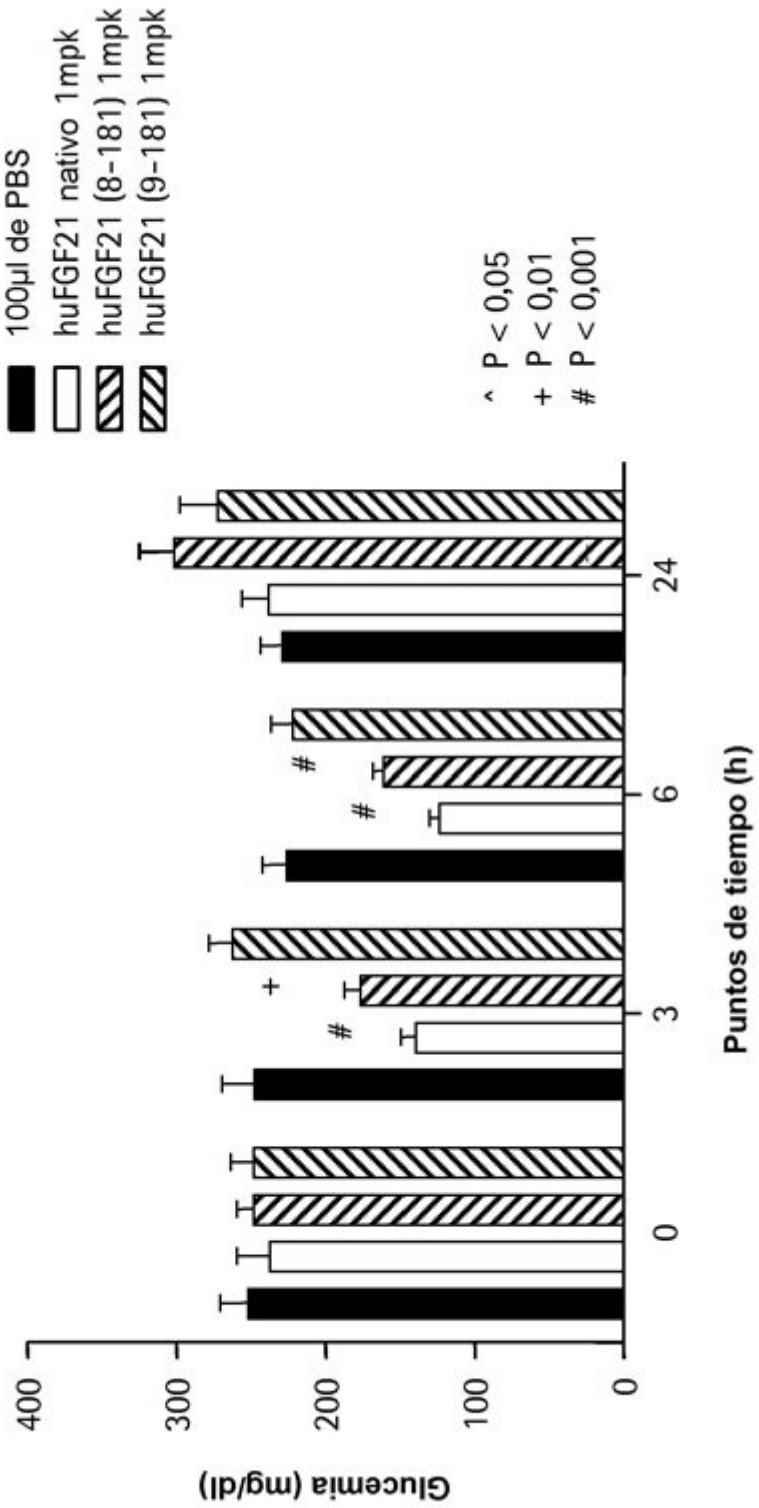

100µl de PBS
huFGF21 nativo 1mpk
huFGF21 (8-181) 1mpk
huFGF21 (9-181) 1mpk
^ P < 0,05
+ P < 0,01
# P < 0,001
Glucemia (mg/dl)
400
300
200
100
0
0
3
6
24
Puntos de tiempo (h)

FIG. 4

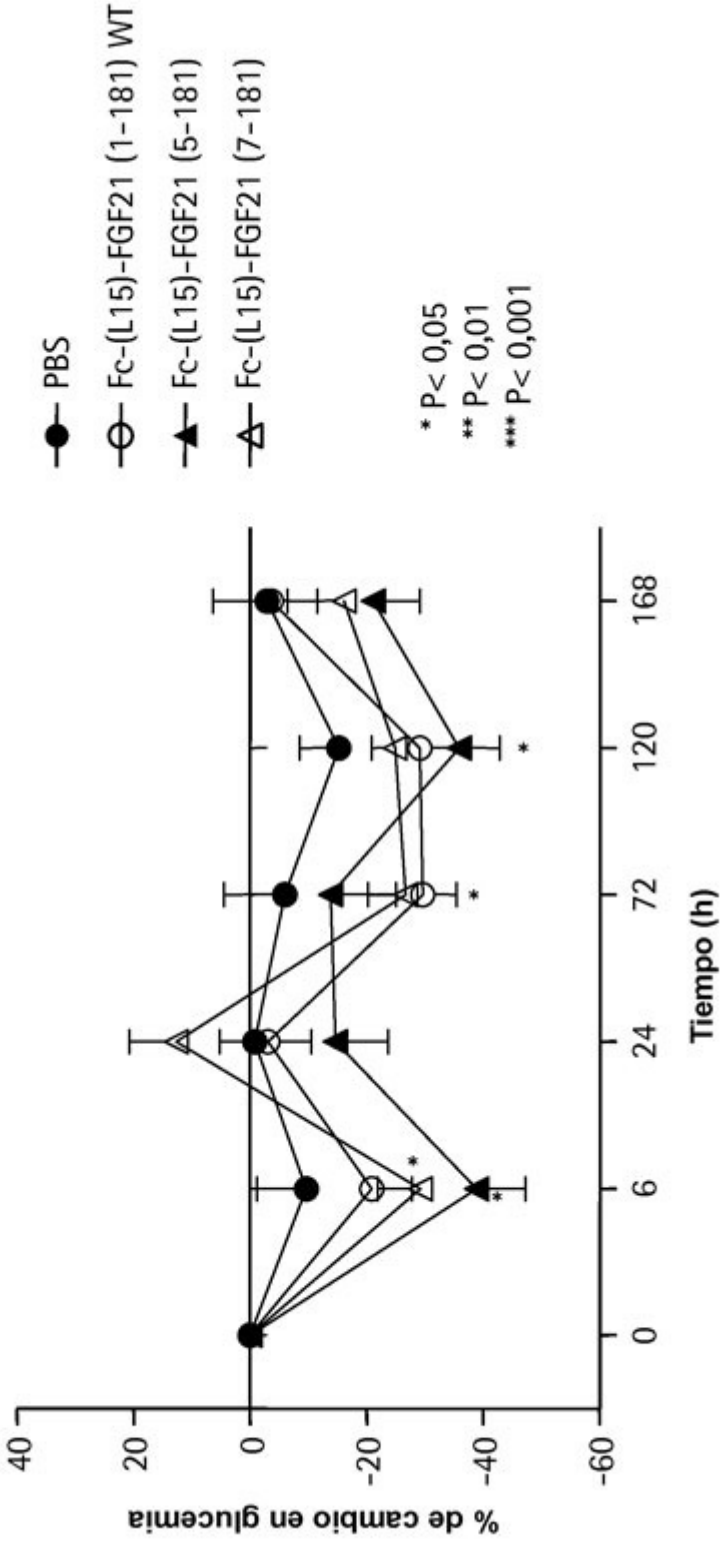

PBS
Fc-(L15)-FGF21 (1-181) WT
Fc-(L15)-FGF21 (5-181)
Fc-(L15)-FGF21 (7-181)
* P< 0,05
** P< 0,01
*** P< 0,001
% de cambio en glucemia
40
20
0
-20
-40
-60
0
6
24
72
120
168
Tiempo (h)

FIG. 5

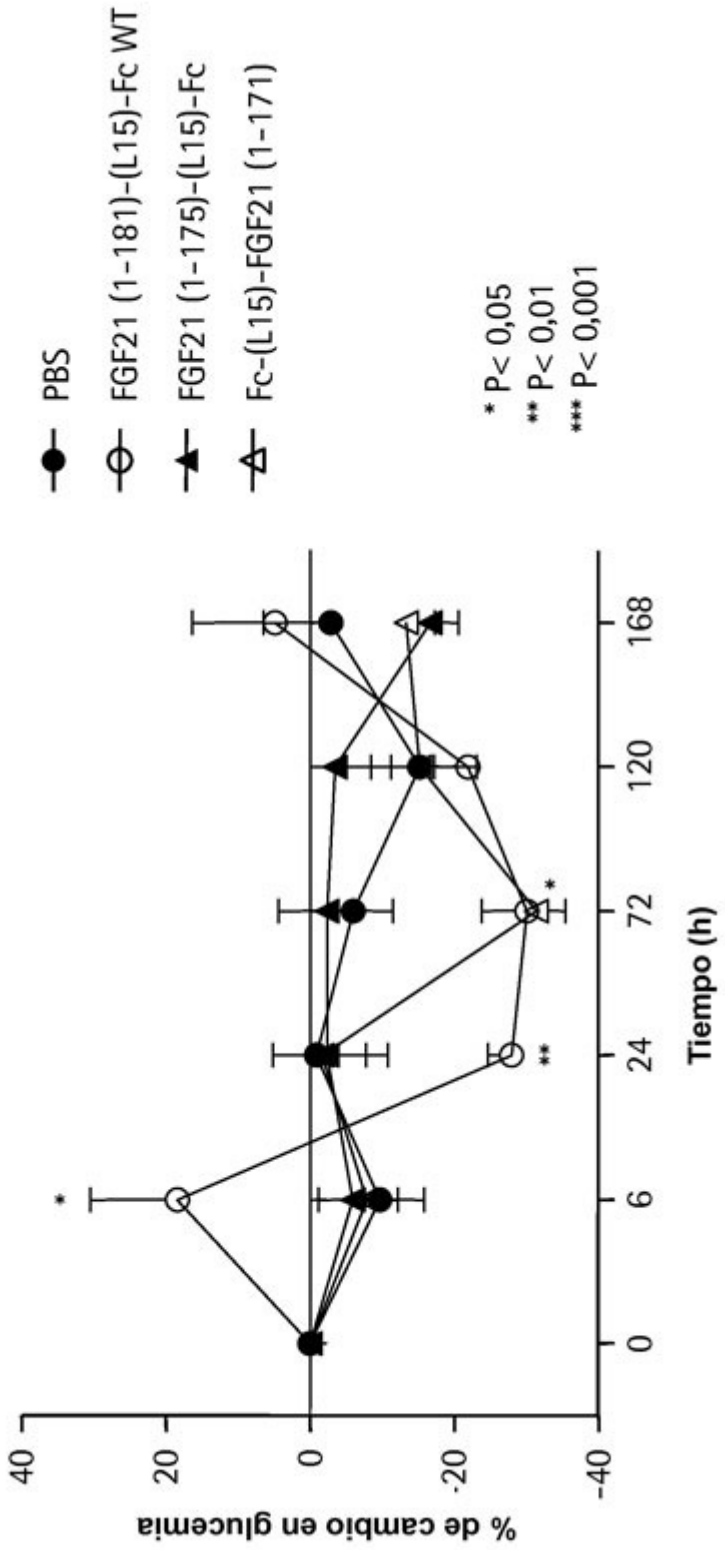

PBS
FGF21 (1-181)-(L15)-Fc WT
FGF21 (1-175)-(L15)-Fc
Fc-(L15)-FGF21 (1-171)
* P< 0,05
** P< 0,01
*** P< 0,001
% de cambio en glucemia
40
20
0
-20
-40
0
6
24
72
120
168
Tiempo (h)
*
**
*

FIG. 6A

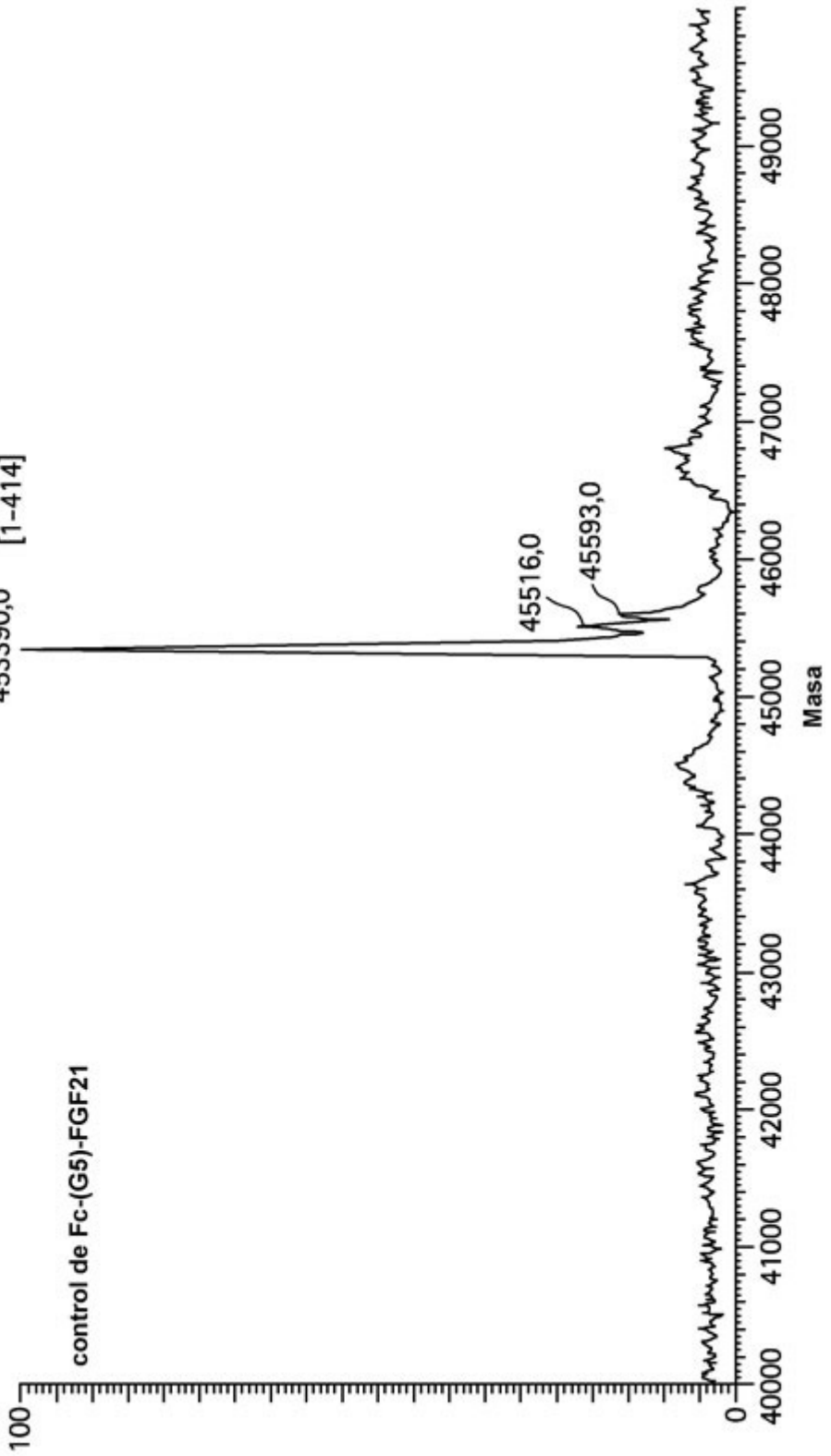

453390,0
[1-414]
45516,0
45593,0
control de Fc-(G5)-FGF21
100
0
40000
41000
42000
43000
44000
45000
46000
47000
48000
49000
Masa

FIG. 6B

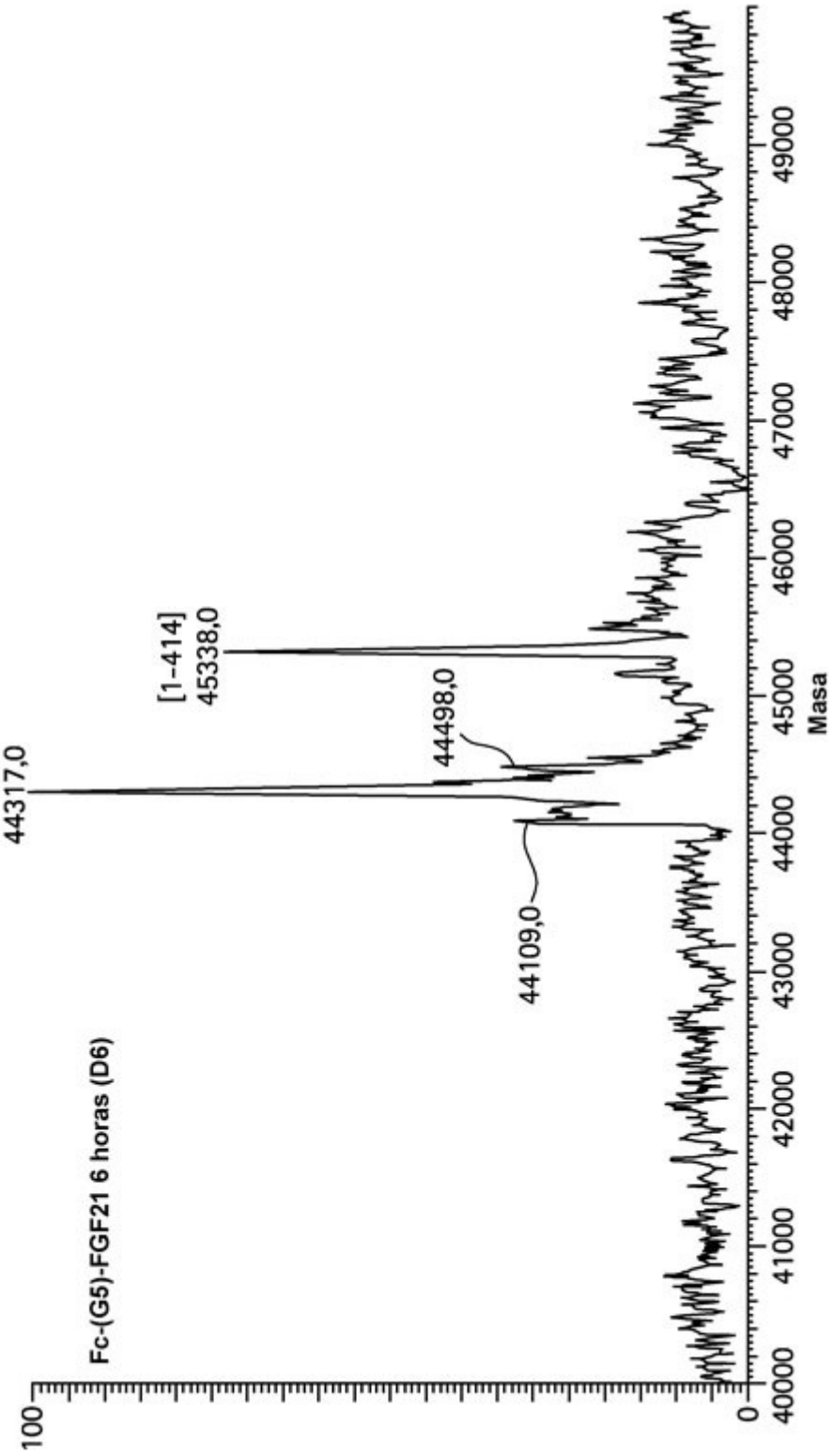

Fc-(G5)-FGF21 6 horas (D6)
100
0
40000
41000
42000
43000
44000
45000
46000
47000
48000
49000
Masa
[1-404]
44317,0
[1-414]
45338,0
44498,0
44109,0

FIG. 6C

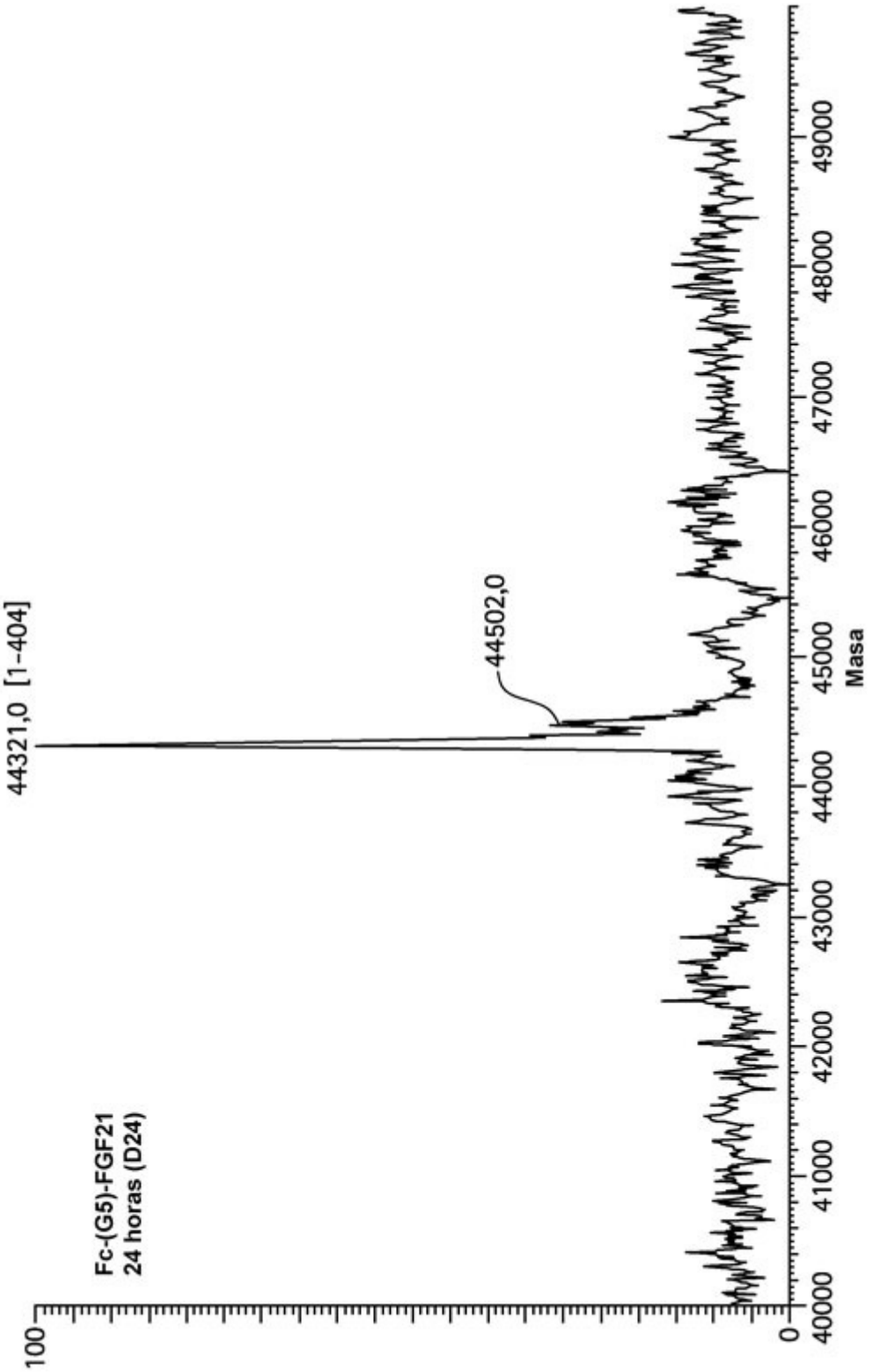

44321,0 [1-404]
44502,0
Fc-(G5)-FGF21
24 horas (D24)
100
0
40000
41000
42000
43000
44000
45000
46000
47000
48000
49000
Masa

FIG. 6D

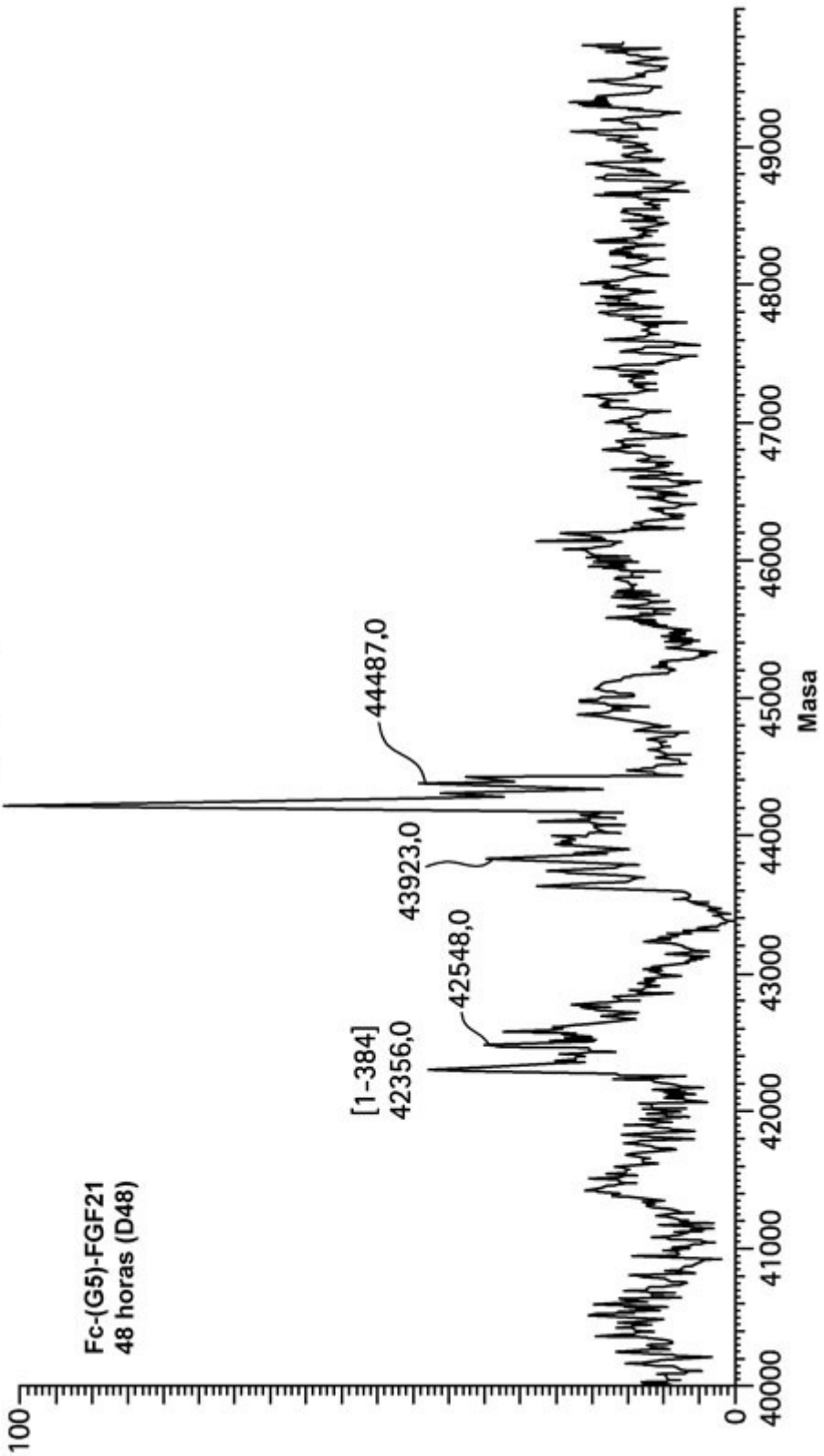

Fc-(G5)-FGF21
48 horas (D48)
100
0
40000
41000
42000
43000
44000
45000
46000
47000
48000
49000
Masa
44327,0 [1-404]
44487,0
43923,0
42548,0
[1-384]
42356,0

FIG. 7A

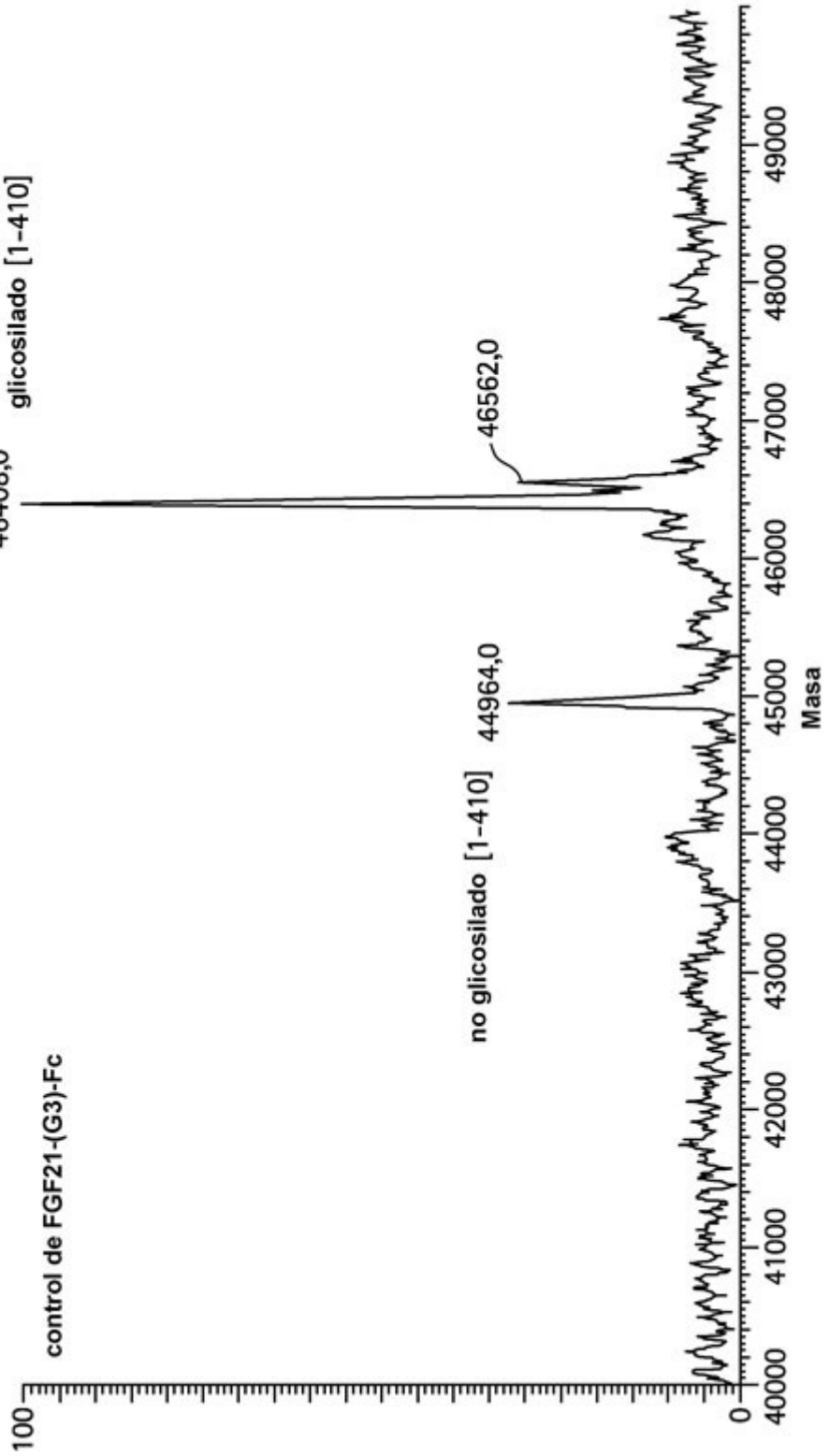

control de FGF21-(G3)-Fc
100
0
40000
41000
42000
43000
44000
45000
46000
47000
48000
49000
Masa
46408,0
glicosilado [1-410]
46562,0
44964,0
no glicosilado [1-410]

FIG. 7B

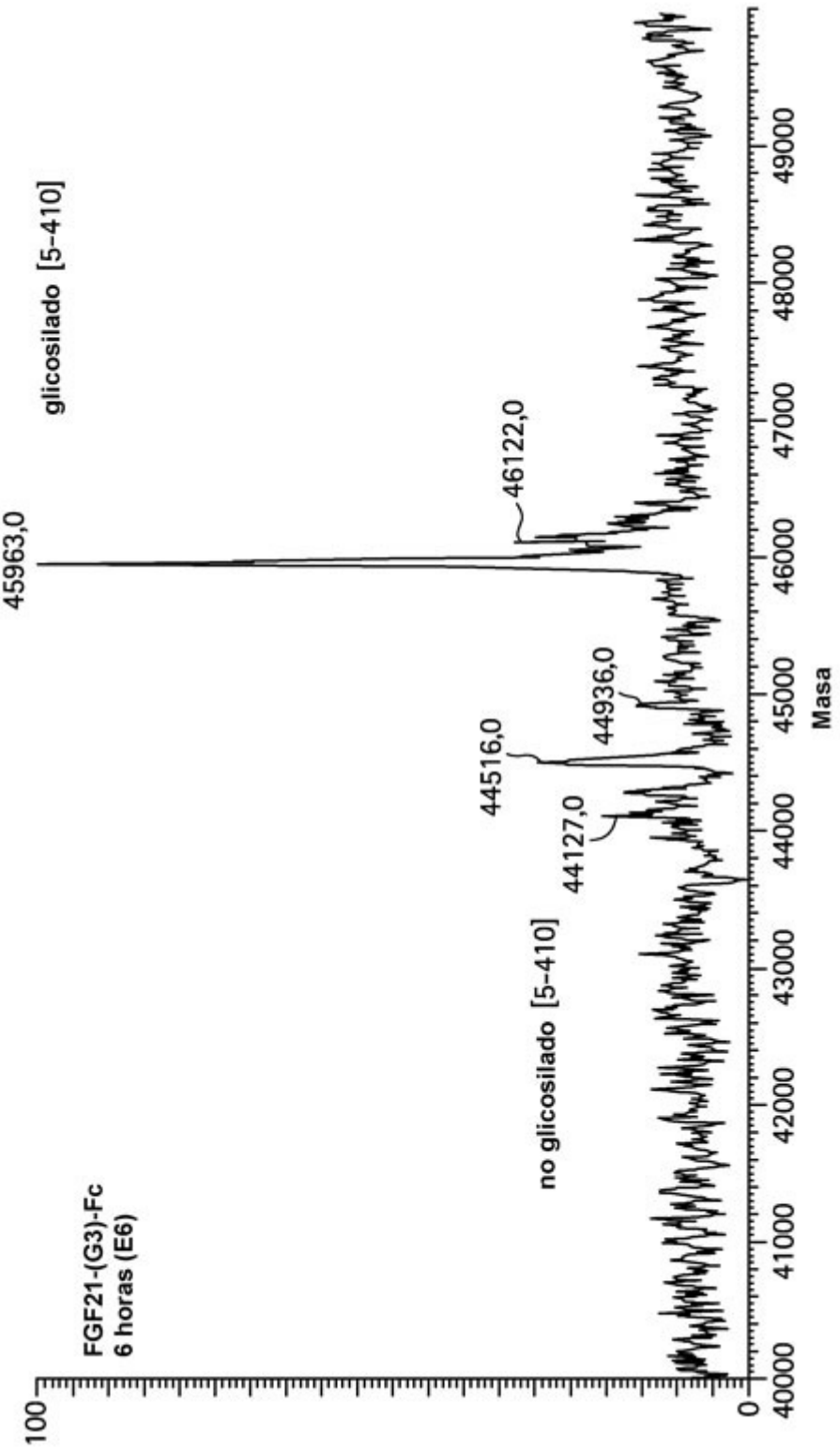

FGF21-(G3)-Fc
6 horas (E6)
100
0
glicosilado [5-410]
45963,0
46122,0
no glicosilado [5-410]
44516,0
44936,0
44127,0
40000
41000
42000
43000
44000
45000
46000
47000
48000
49000
Masa

FIG. 7C

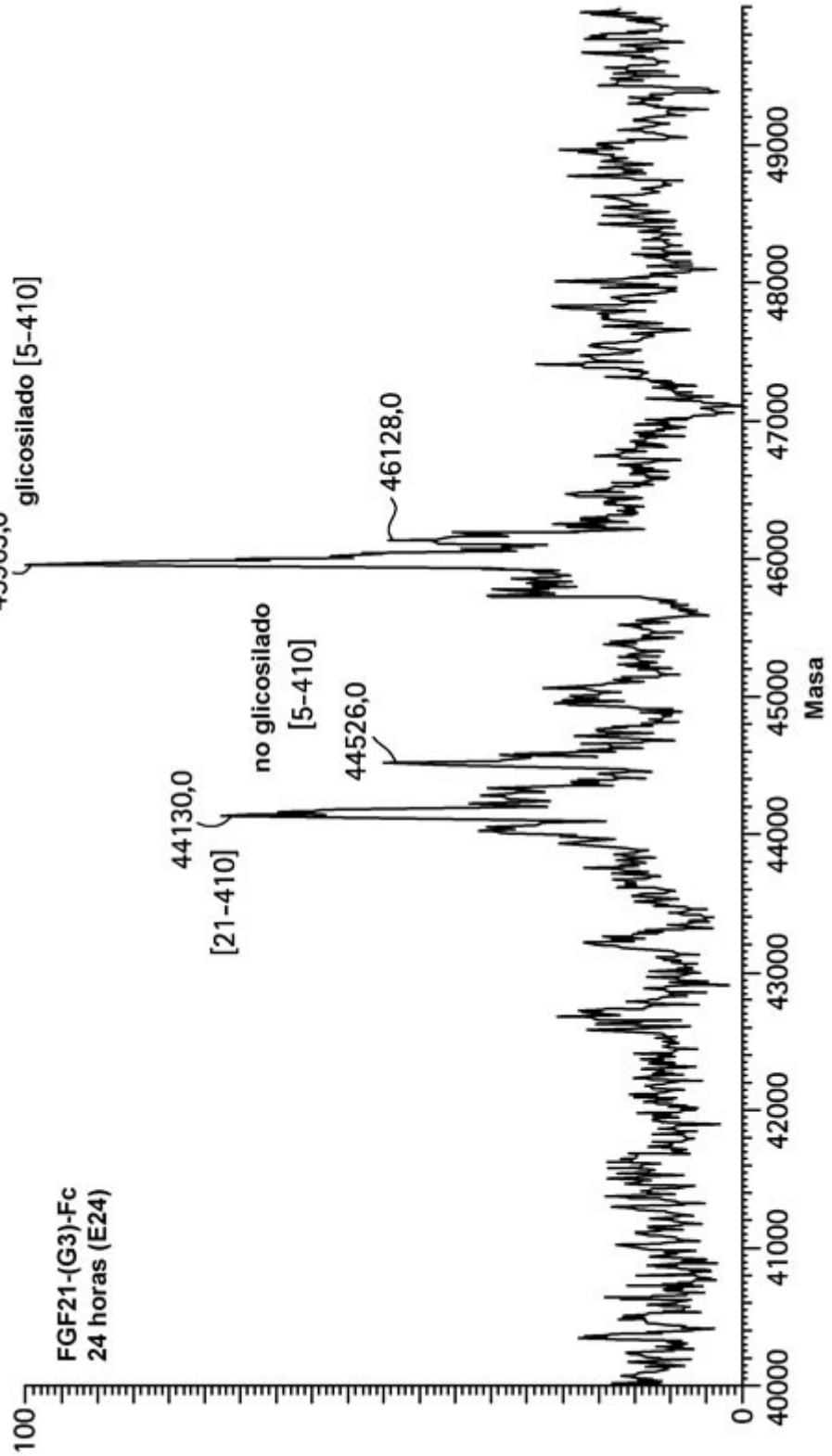

FGF21-(G3)-Fc
24 horas (E24)
100
0
40000
41000
42000
43000
44000
45000
46000
47000
48000
49000
Masa
45963,0
glicosilado [5-410]
46128,0
44130,0
[21-410]
no glicosilado
[5-410]
44526,0

FIG. 7D

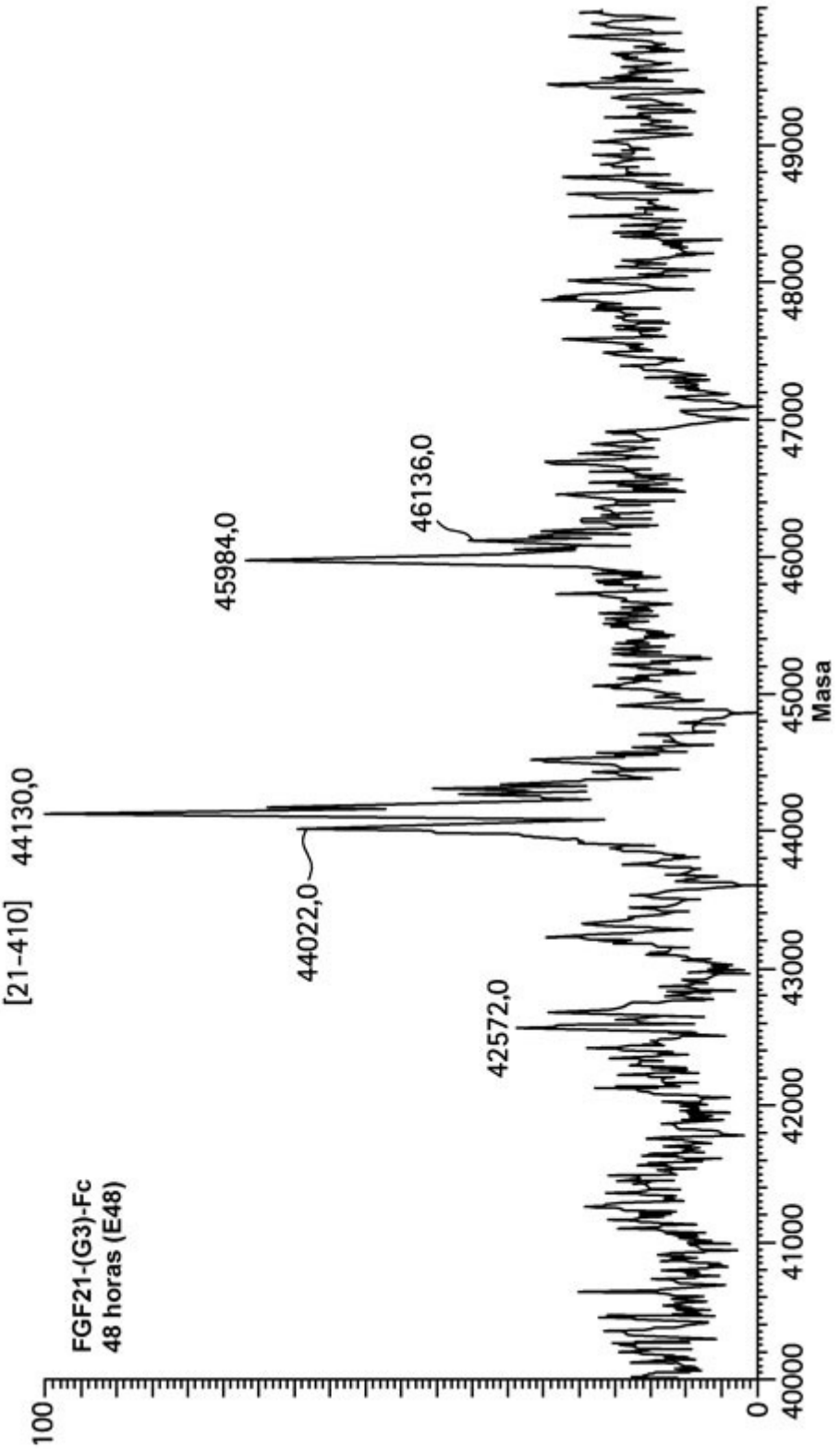

FGF21-(G3)-Fc
48 horas (E48)
[21-410]
44130,0
44022,0
42572,0
45984,0
46136,0
100
0
40000
41000
42000
43000
44000
45000
46000
47000
48000
49000
Masa

FIG. 8A

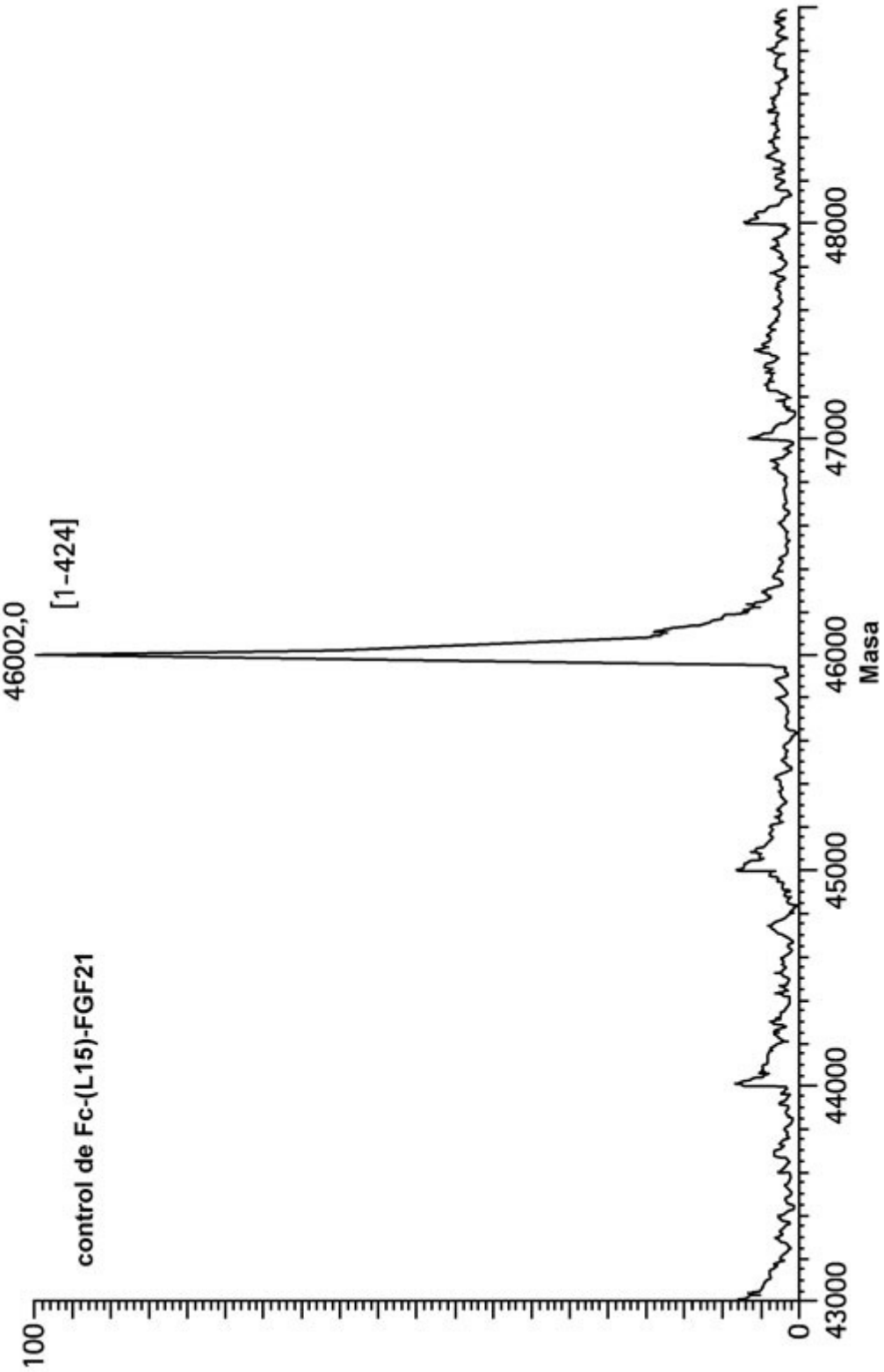

46002,0
[1-424]
control de Fc-(L15)-FGF21
100
0
43000
44000
45000
46000
47000
48000
Masa

FIG. 8B

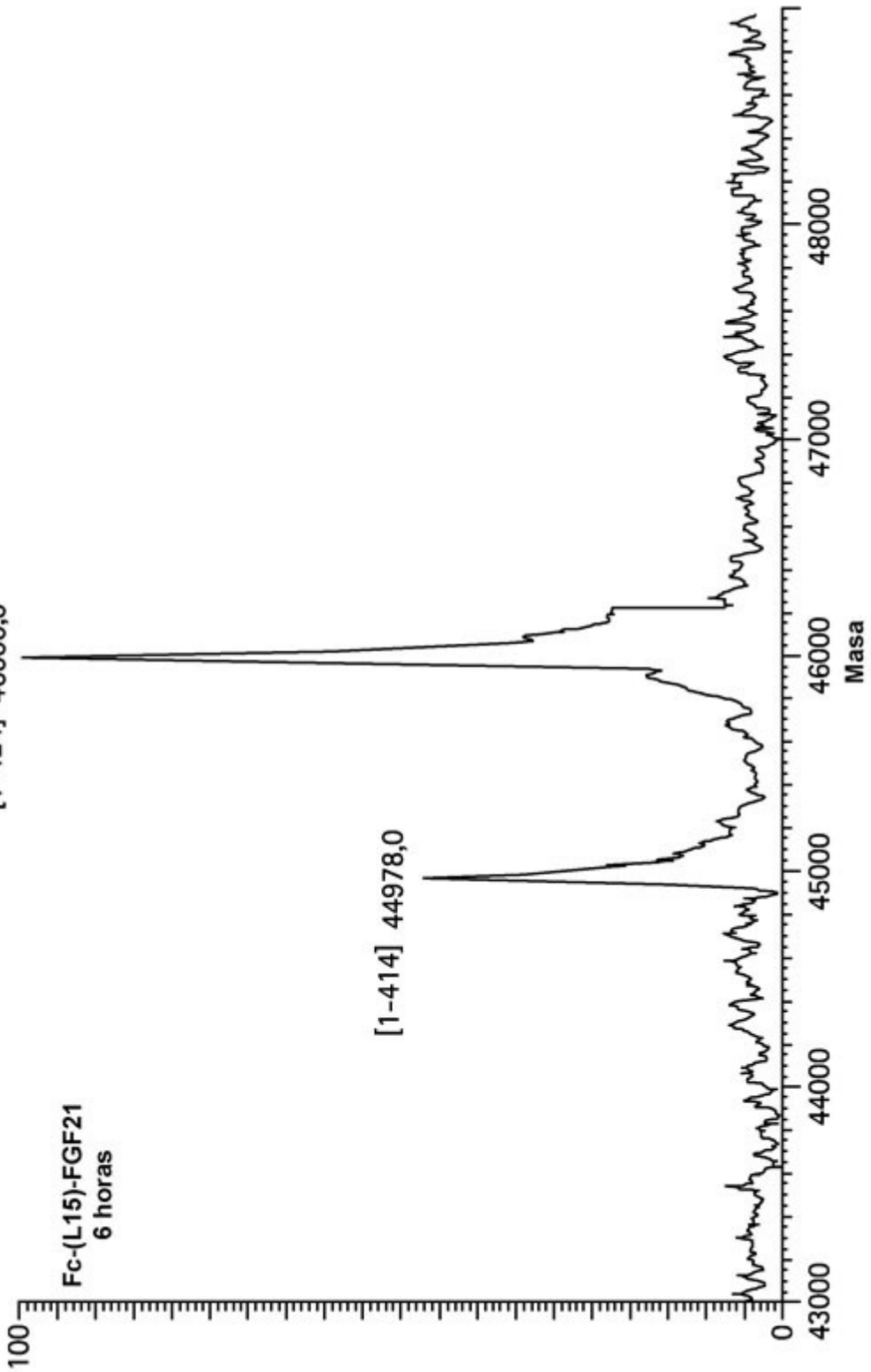

[1-424] 46000,0
[1-414] 44978,0
Fc-(L15)-FGF21
6 horas
100
0
43000
44000
45000
46000
47000
48000
Masa

FIG. 8C

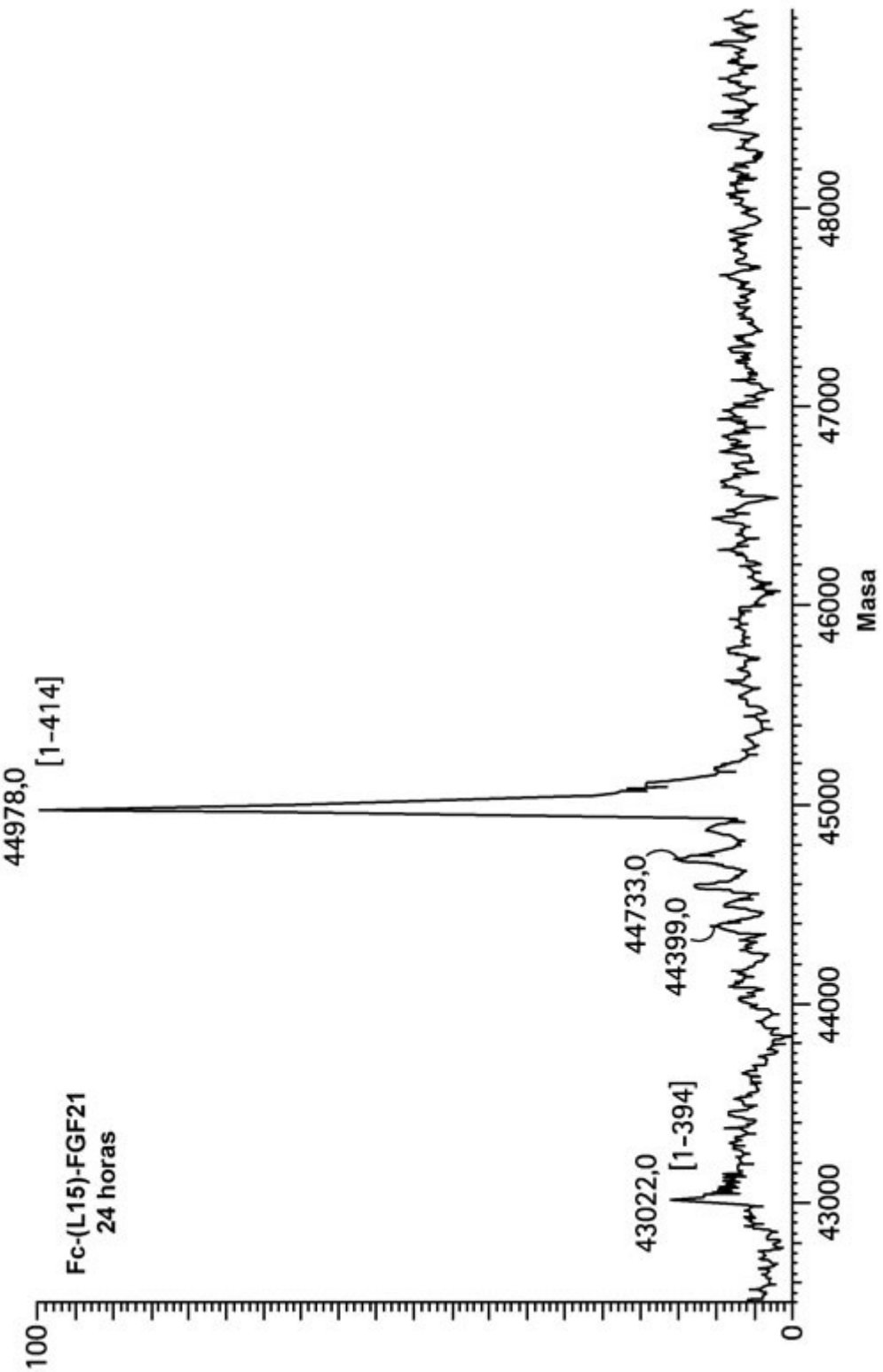

Fc-(L15)-FGF21
24 horas
100
0
44978,0
[1-414]
44733,0
44399,0
43022,0
[1-394]
43000
44000
45000
46000
47000
48000
Masa

FIG. 8D

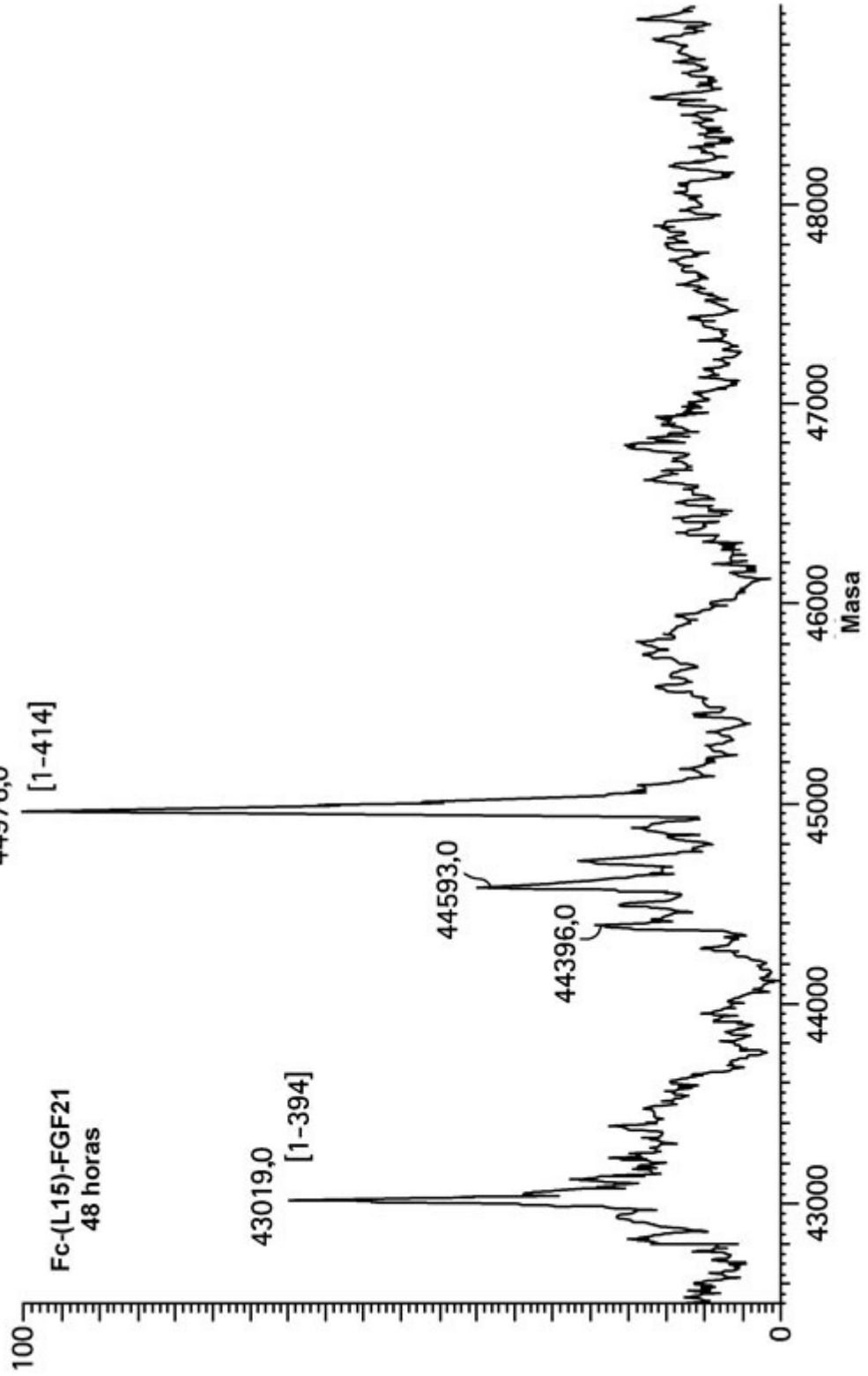

Fc-(L15)-FGF21
48 horas
100
0
43019,0
[1-394]
44396,0
44593,0
44976,0
[1-414]
43000
44000
45000
46000
47000
48000
Masa

FIG. 9A

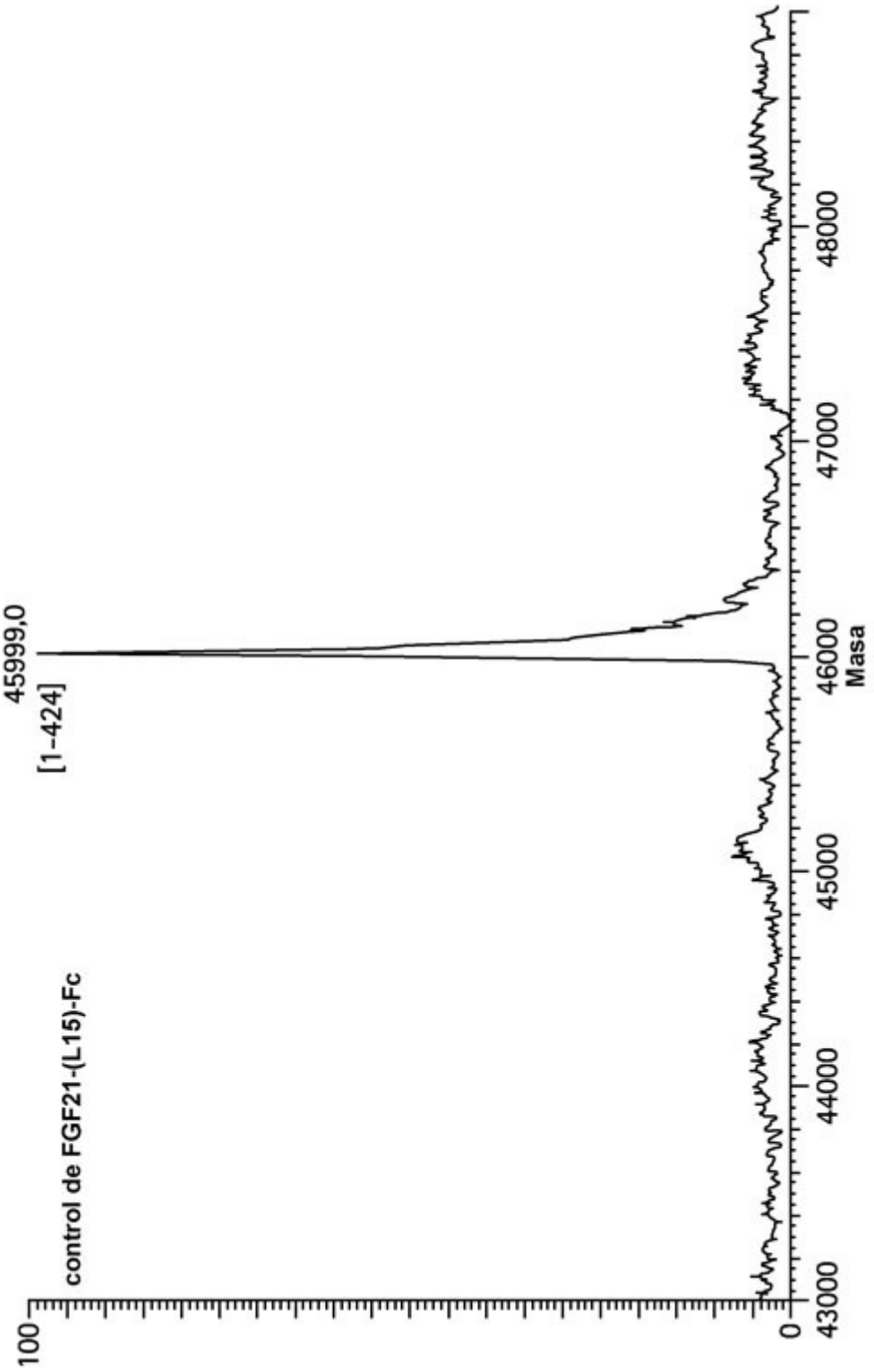

45999,0
[1-424]
control de FGF21-(L15)-Fc
100
0
43000
44000
45000
46000
47000
48000
Masa

FIG. 9B

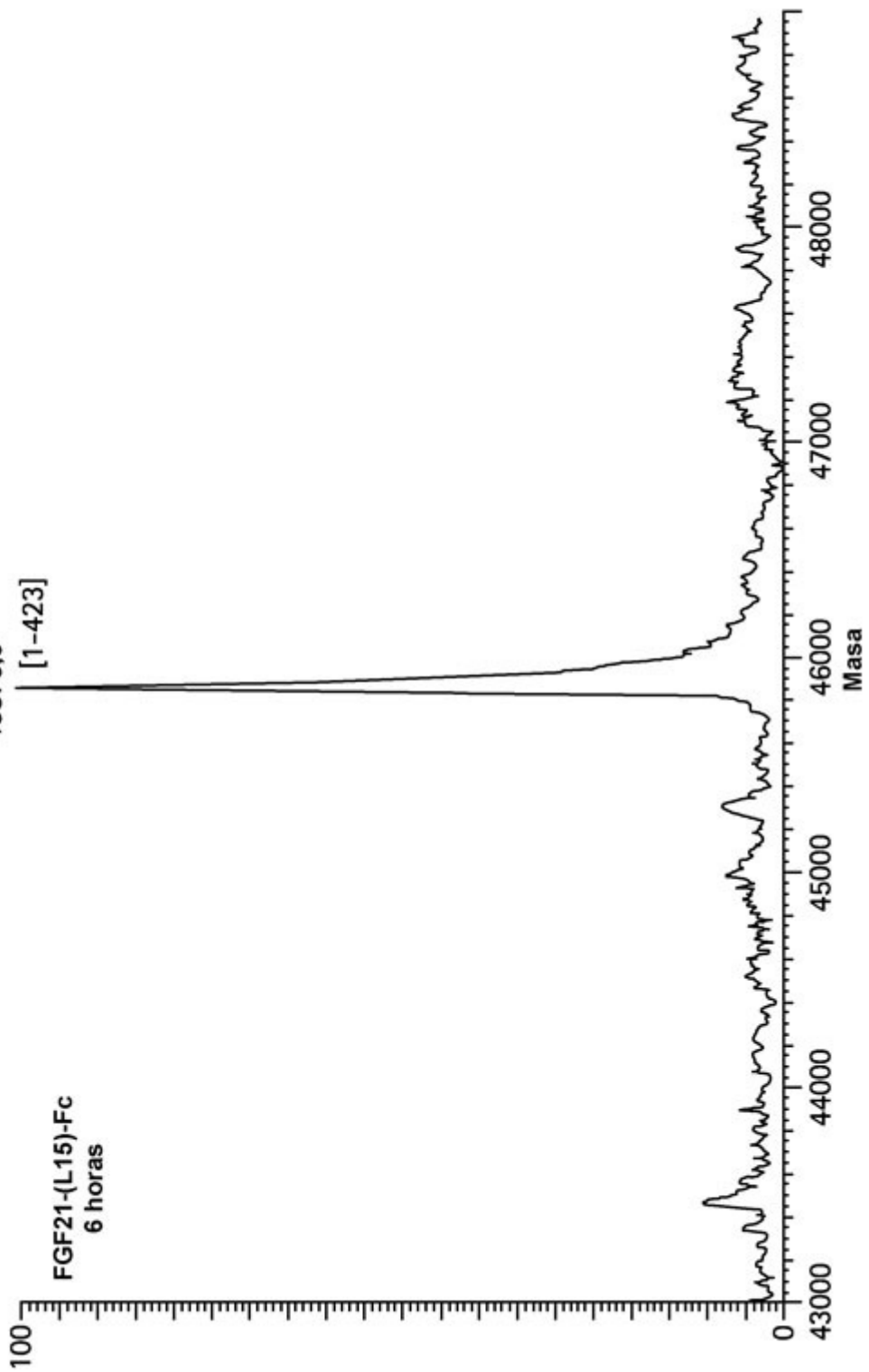

45870,0
[1-423]
FGF21-(L15)-Fc
6 horas
100
0
43000
44000
45000
46000
47000
48000
Masa

FIG. 9C

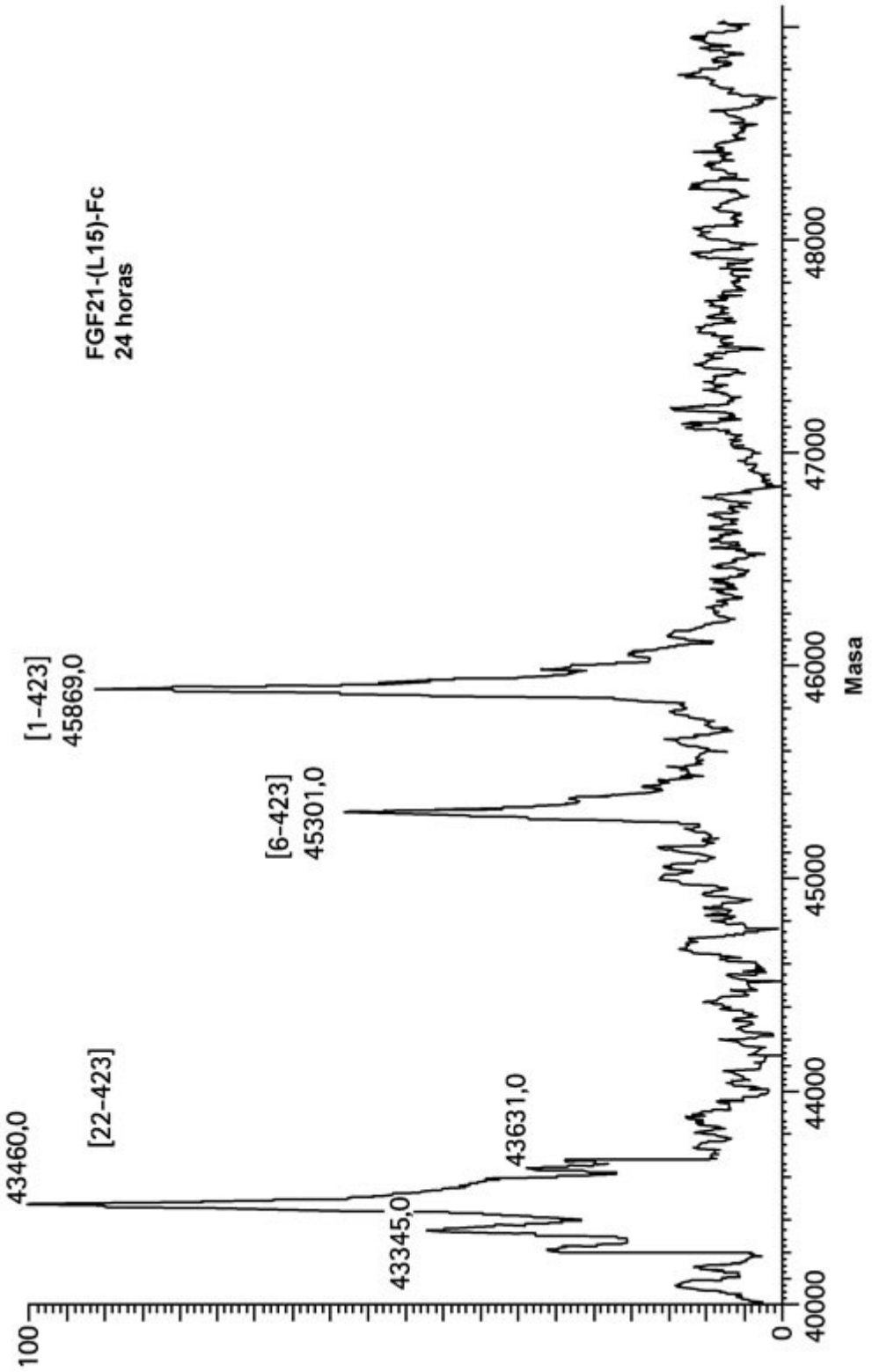

FGF21-(L15)-Fc
24 horas
[1-423]
45869,0
[6-423]
45301,0
[22-423]
43460,0
43631,0
43345,0
100
0
40000
44000
45000
46000
47000
48000
Masa

FIG. 9D

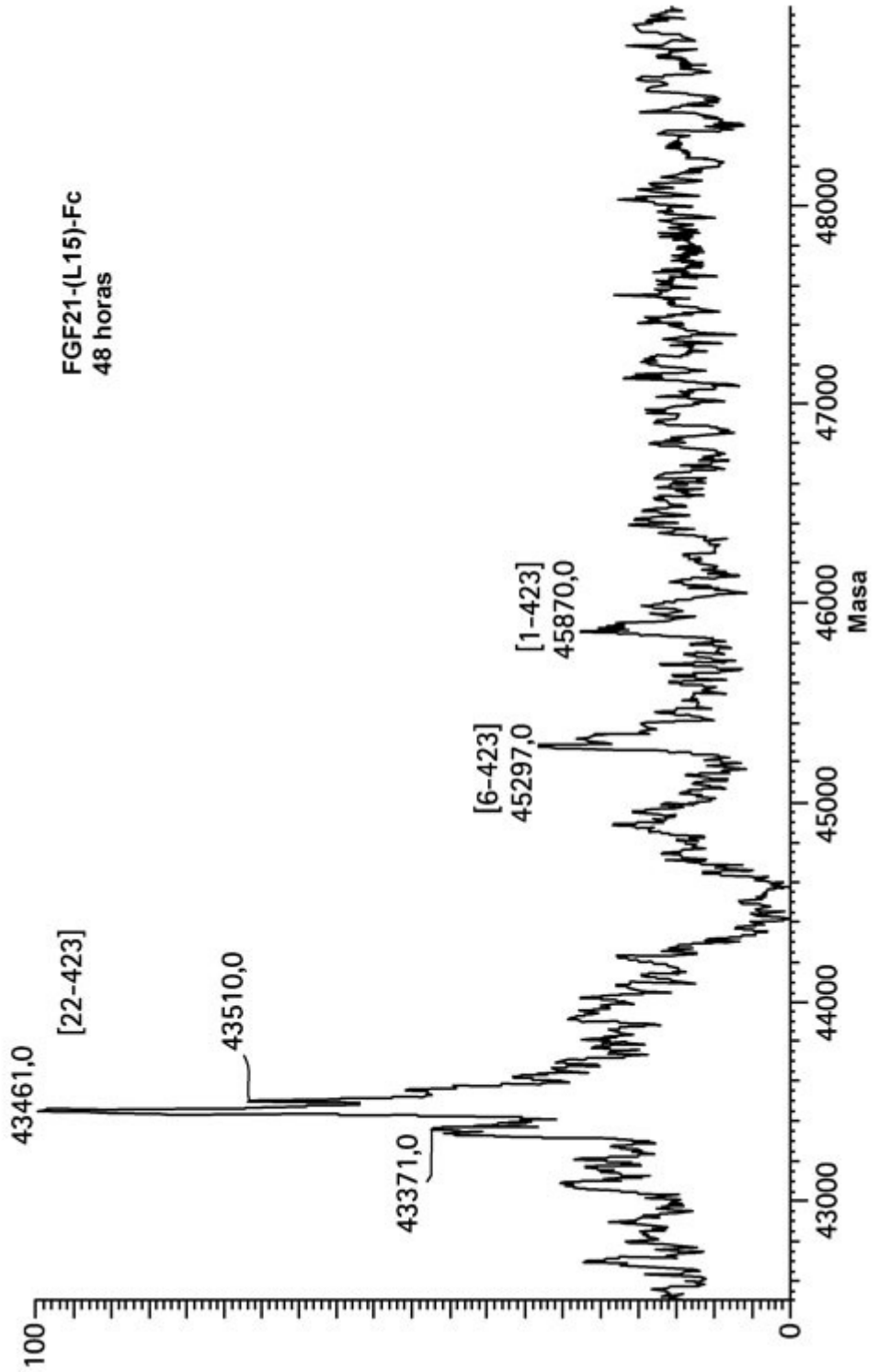

FGF21-(L15)-Fc
48 horas
43461,0
[22-423]
43510,0
43371,0
[6-423]
45297,0
[1-423]
45870,0
100
0
43000
44000
45000
46000
47000
48000
Masa

FIG. 10A

Fc-(L15)-FGF21

MDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*GGGGSGGGSGG*
GGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQR
PDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQP
PDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS

6 h (35%)
24 h (85%) [1-414]
48 h (60%)

24 h (15%)
48 h (40%) [1-394]

24 h (35%)
48 h (20%)
[6-423]
24 h (25%)
48 h (65%)
[22-423]
Fc-(L15)-FGF21
6 h (100%)
[1-423]
MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPD
GALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPD
VGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS
GGGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP
REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

FIG. 10B

FIG. 11

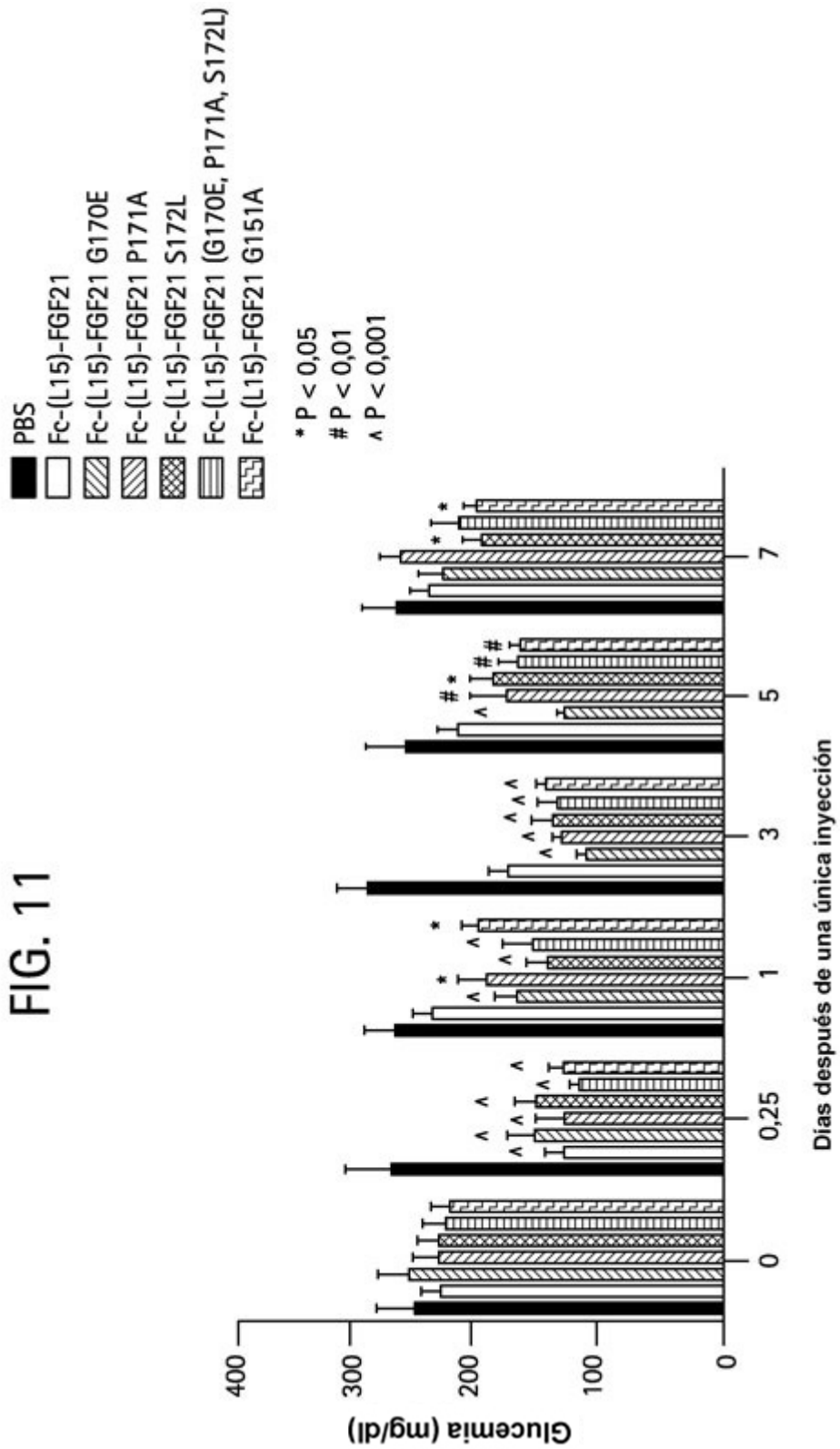

PBS
Fc-(L15)-FGF21
Fc-(L15)-FGF21 G170E
Fc-(L15)-FGF21 P171A
Fc-(L15)-FGF21 S172L
Fc-(L15)-FGF21 (G170E, P171A, S172L)
Fc-(L15)-FGF21 G151A
* P < 0,05
# P < 0,01
^ P < 0,001
Glucemia (mg/dl)
0
100
200
300
400
0
0,25
1
3
5
7
Días después de una única inyección

FIG. 12

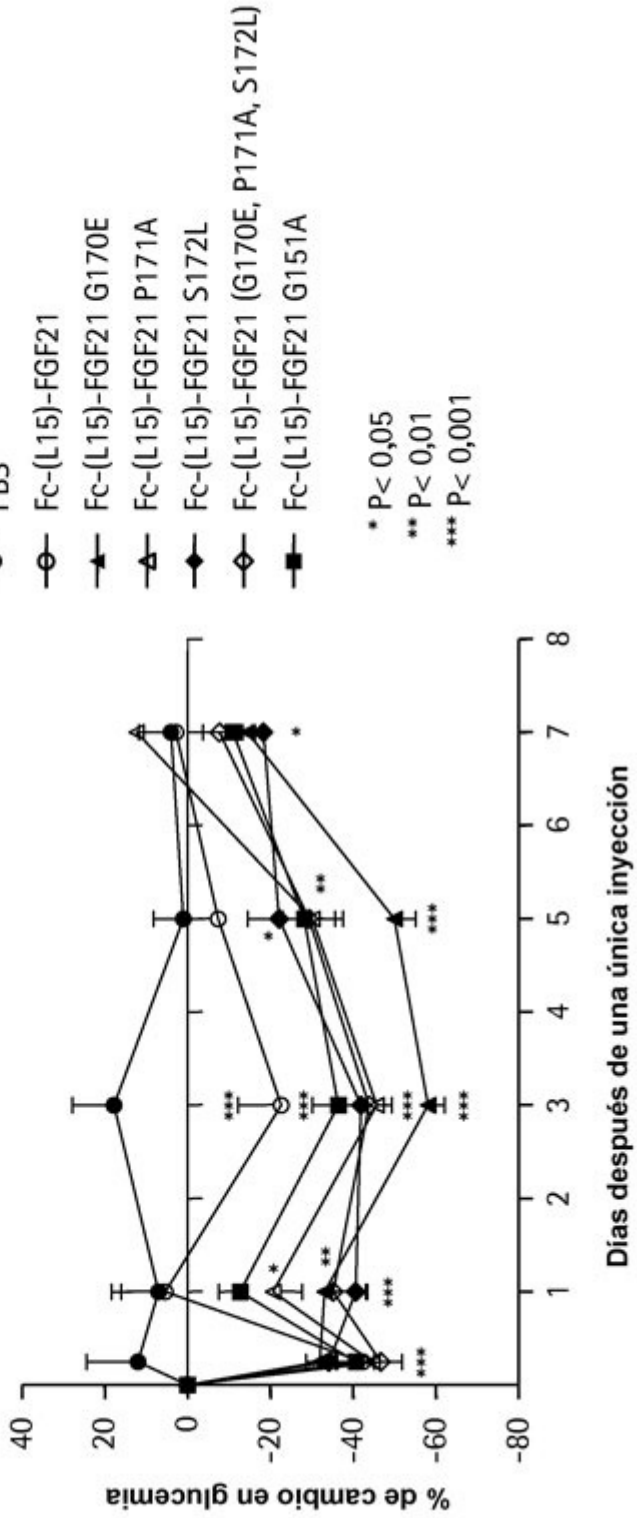

PBS
Fc-(L15)-FGF21
Fc-(L15)-FGF21 G170E
Fc-(L15)-FGF21 P171A
Fc-(L15)-FGF21 S172L
Fc-(L15)-FGF21 (G170E, P171A, S172L)
Fc-(L15)-FGF21 G151A
* P< 0,05
** P< 0,01
*** P< 0,001
% de cambio en glucemia
Dias después de una única inyección

FIG. 13

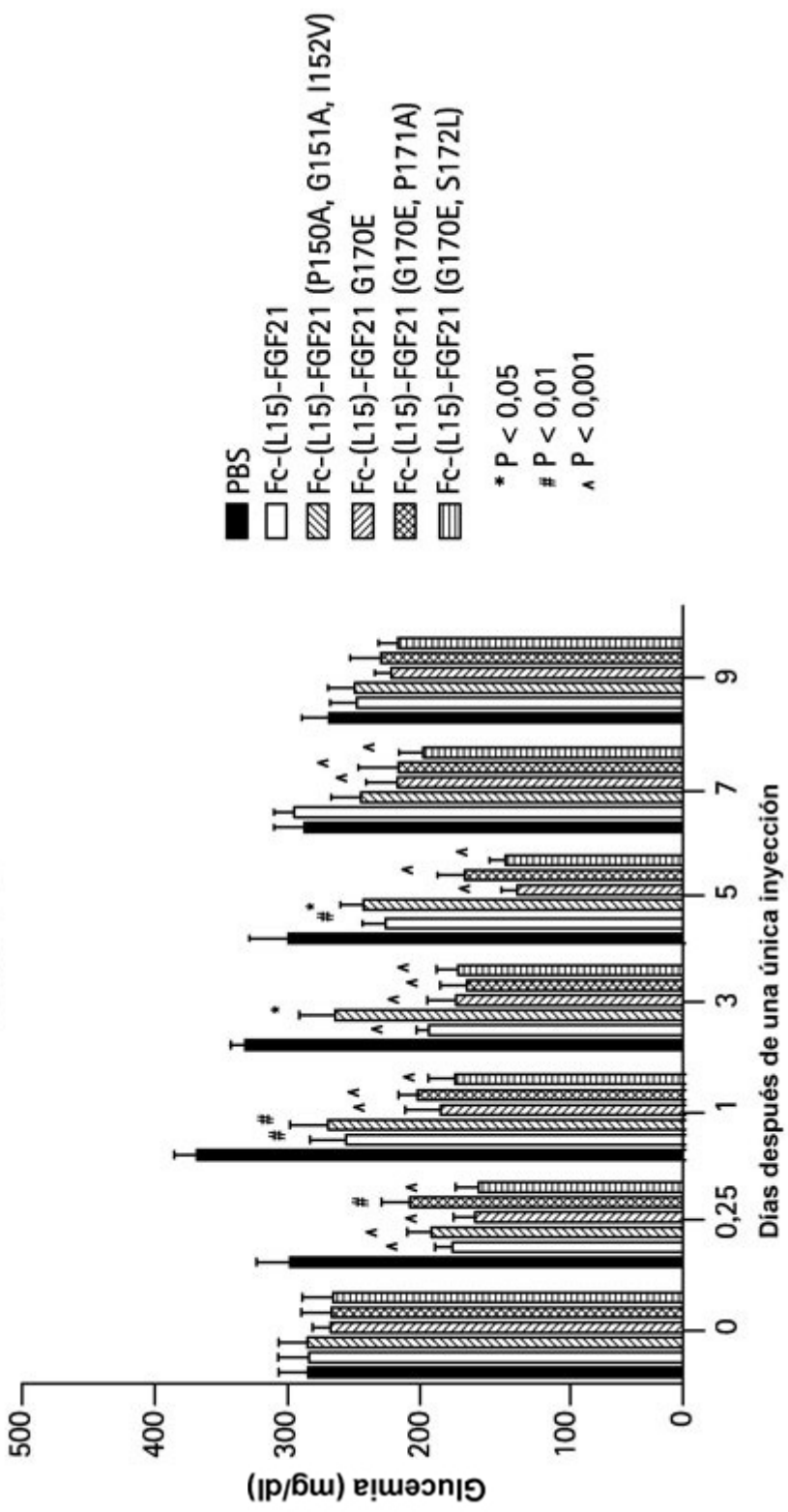

PBS
Fc-(L15)-FGF21
Fc-(L15)-FGF21 (P150A, G151A, I152V)
Fc-(L15)-FGF21 G170E
Fc-(L15)-FGF21 (G170E, P171A)
Fc-(L15)-FGF21 (G170E, S172L)
* P < 0,05
# P < 0,01
^ P < 0,001
Glucemia (mg/dl)
500
400
300
200
100
0
0
0,25
1
3
5
7
9
Días después de una única inyección

FIG. 14

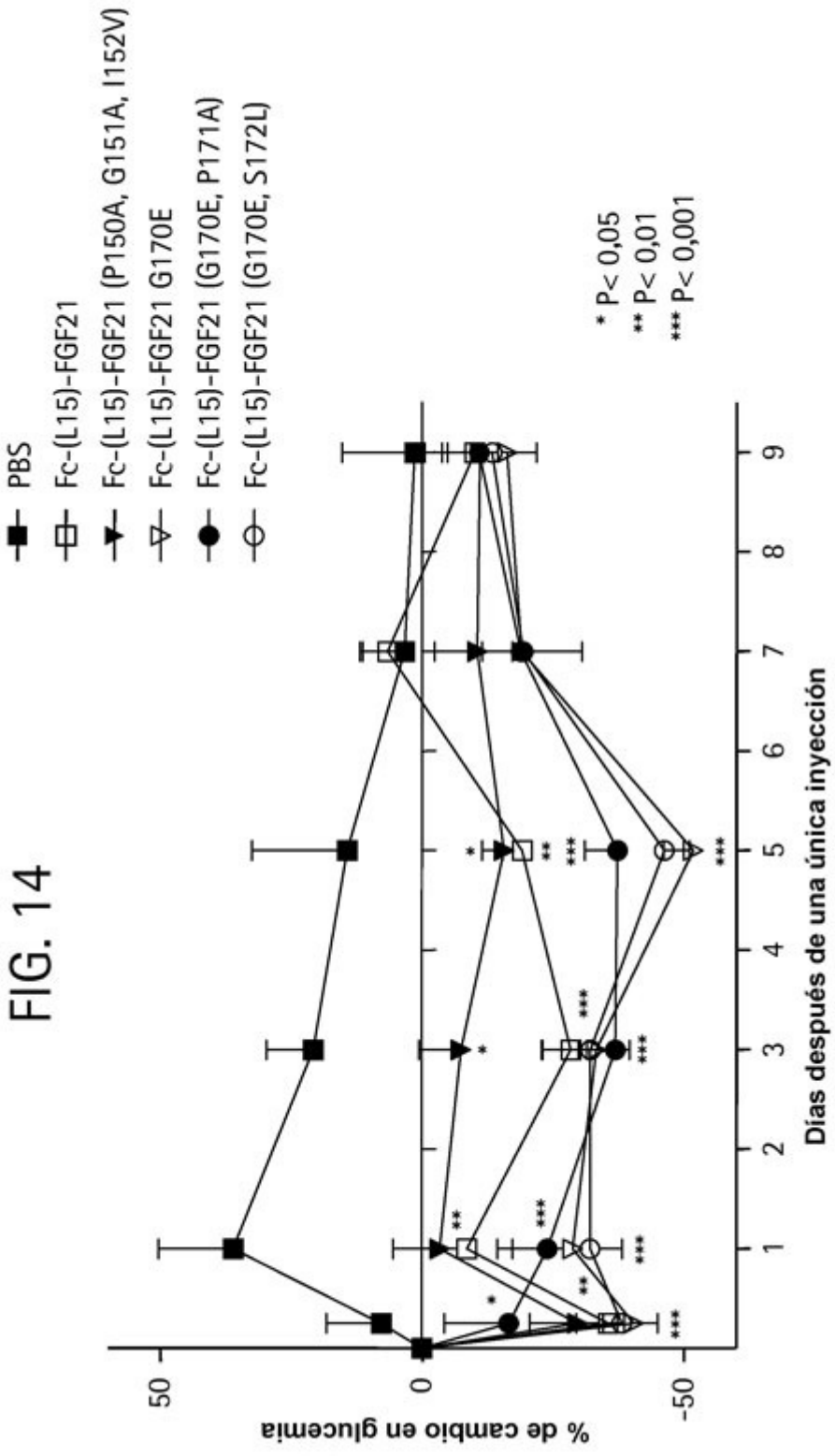

PBS
Fc-(L15)-FGF21
Fc-(L15)-FGF21 (P150A, G151A, I152V)
Fc-(L15)-FGF21 G170E
Fc-(L15)-FGF21 (G170E, P171A)
Fc-(L15)-FGF21 (G170E, S172L)
* P< 0,05
** P< 0,01
*** P< 0,001
% de cambio en glucemia
50
0
-50
1
2
3
4
5
6
7
8
9
Días después de una única inyección

FIG. 15

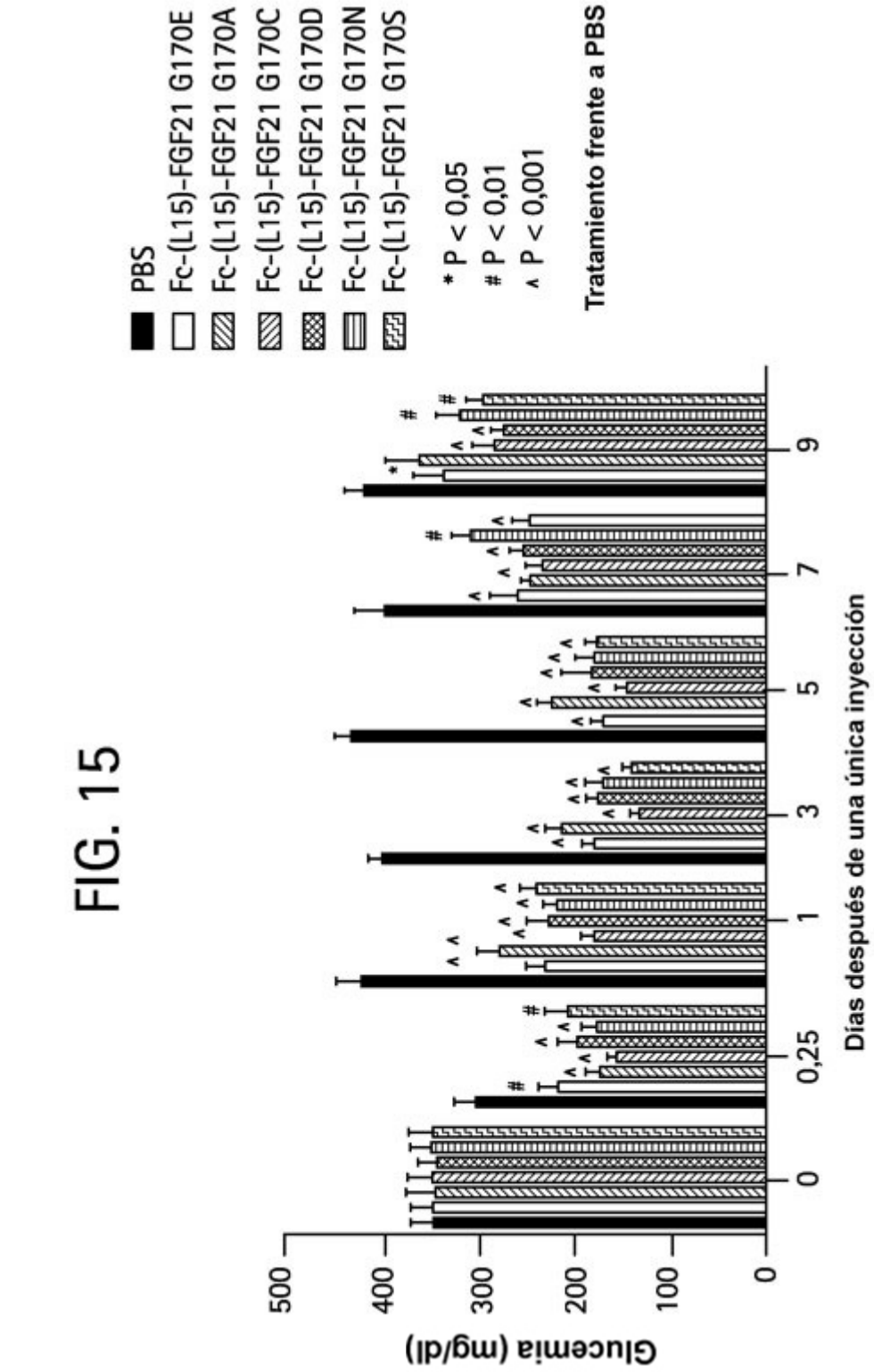

PBS
Fc-(L15)-FGF21 G170E
Fc-(L15)-FGF21 G170A
Fc-(L15)-FGF21 G170C
Fc-(L15)-FGF21 G170D
Fc-(L15)-FGF21 G170N
Fc-(L15)-FGF21 G170S
* P < 0,05
# P < 0,01
^ P < 0,001
Tratamiento frente a PBS
Glucemia (mg/dl)
500
400
300
200
100
0
0
0,25
1
3
5
7
9
Días después de una única inyección

FIG. 16

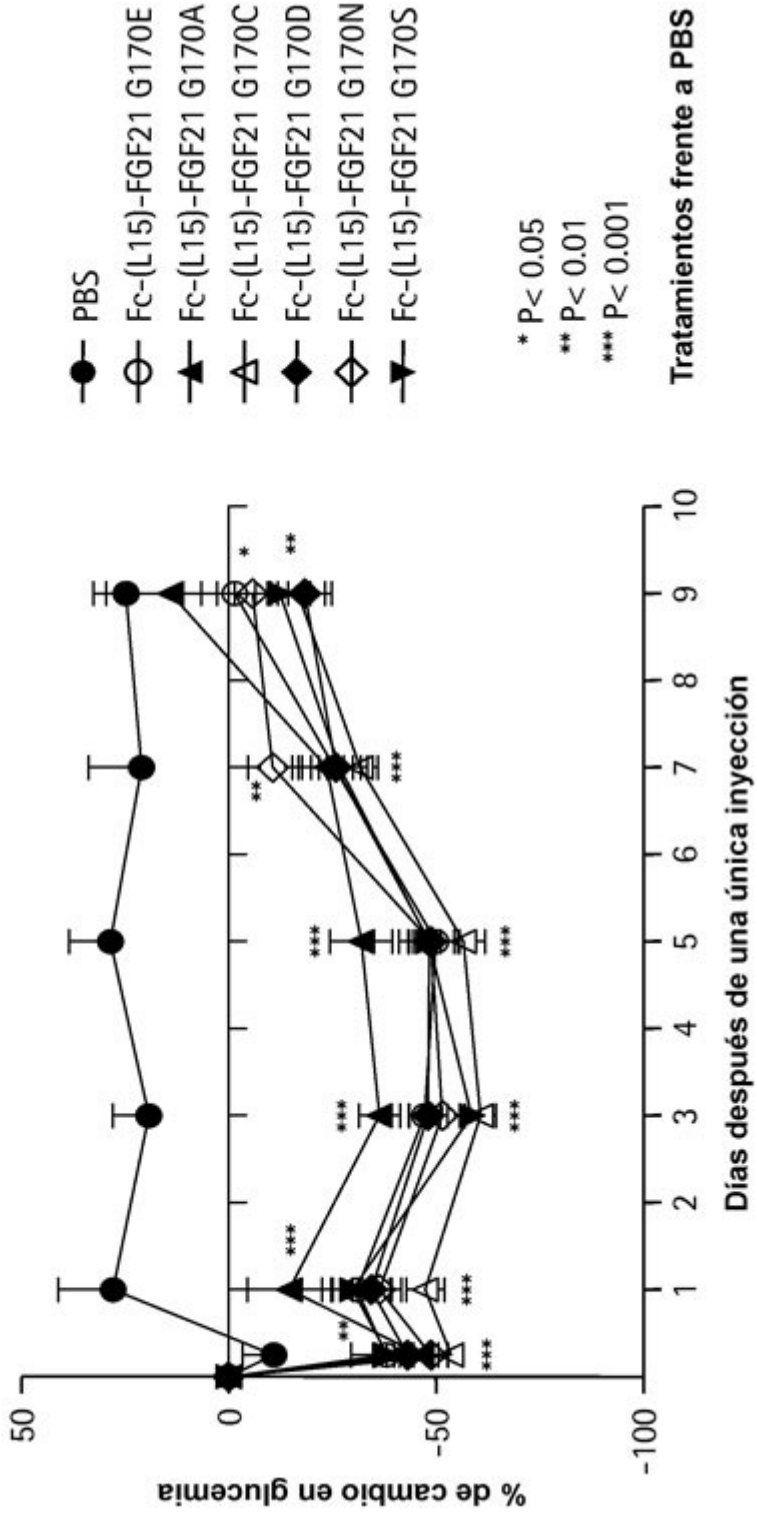

PBS
Fc-(L15)-FGF21 G170E
Fc-(L15)-FGF21 G170A
Fc-(L15)-FGF21 G170C
Fc-(L15)-FGF21 G170D
Fc-(L15)-FGF21 G170N
Fc-(L15)-FGF21 G170S
* P< 0.05
** P< 0.01
*** P< 0.001
Tratamientos frente a PBS
% de cambio en glucemia
50
0
-50
-100
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
Días después de una única inyección

FIG. 17

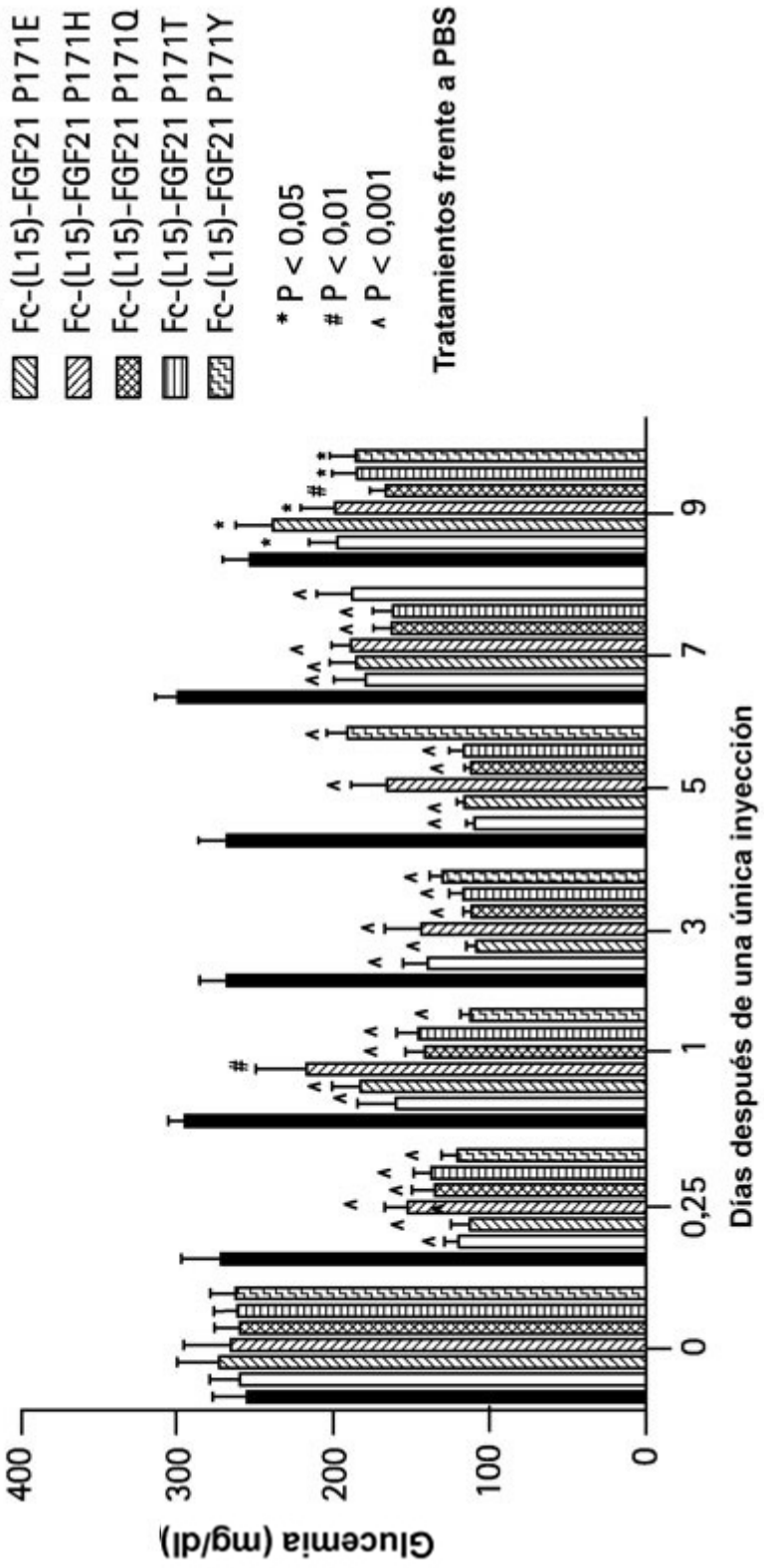

PBS
Fc-(L15)-FGF21 G170E
Fc-(L15)-FGF21 P171E
Fc-(L15)-FGF21 P171H
Fc-(L15)-FGF21 P171Q
Fc-(L15)-FGF21 P171T
Fc-(L15)-FGF21 P171Y
* P < 0,05
# P < 0,01
^ P < 0,001
Tratamientos frente a PBS
Glucemia (mg/dl)
400
300
200
100
0
0
0,25
1
3
5
7
9
Días después de una única inyección

FIG. 18

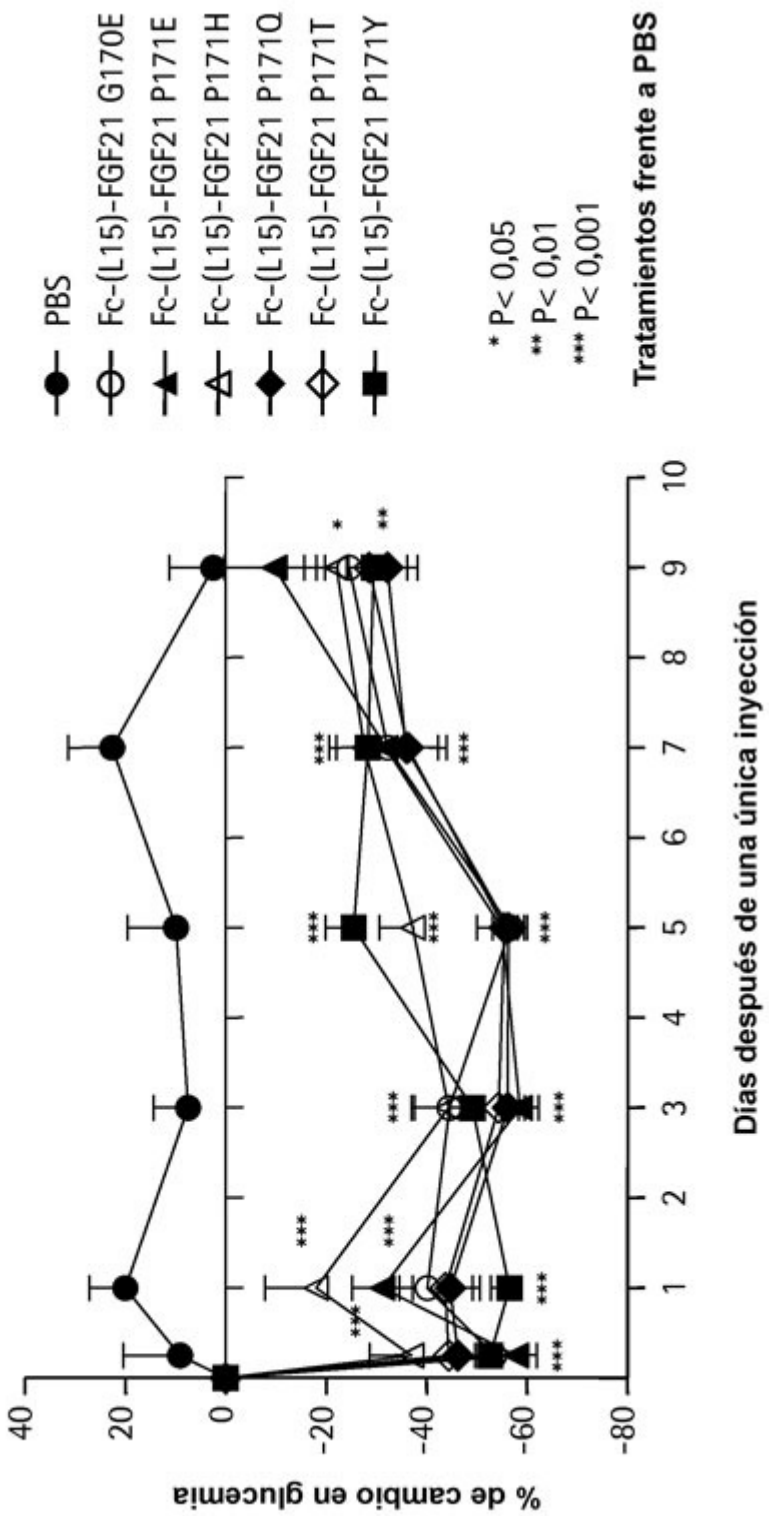

PBS
Fc-(L15)-FGF21 G170E
Fc-(L15)-FGF21 P171E
Fc-(L15)-FGF21 P171H
Fc-(L15)-FGF21 P171Q
Fc-(L15)-FGF21 P171T
Fc-(L15)-FGF21 P171Y
* P< 0,05
** P< 0,01
*** P< 0,001
Tratamientos frente a PBS
% de cambio en glucemia
Días después de una única inyección

FIG. 19A

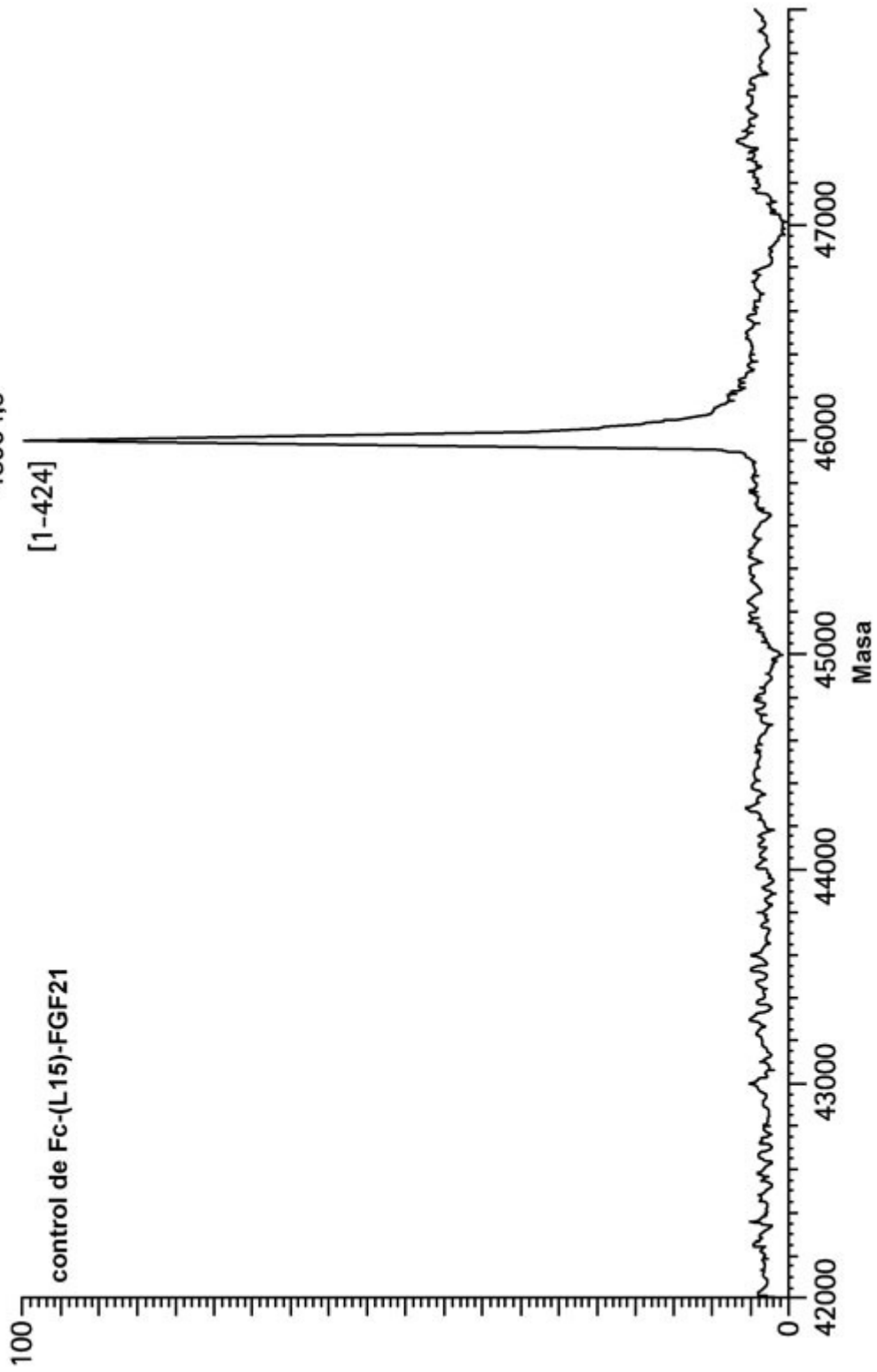

45994,0
[1-424]
control de Fc-(L15)-FGF21
100
0
42000
43000
44000
45000
46000
47000
Masa

FIG. 19B

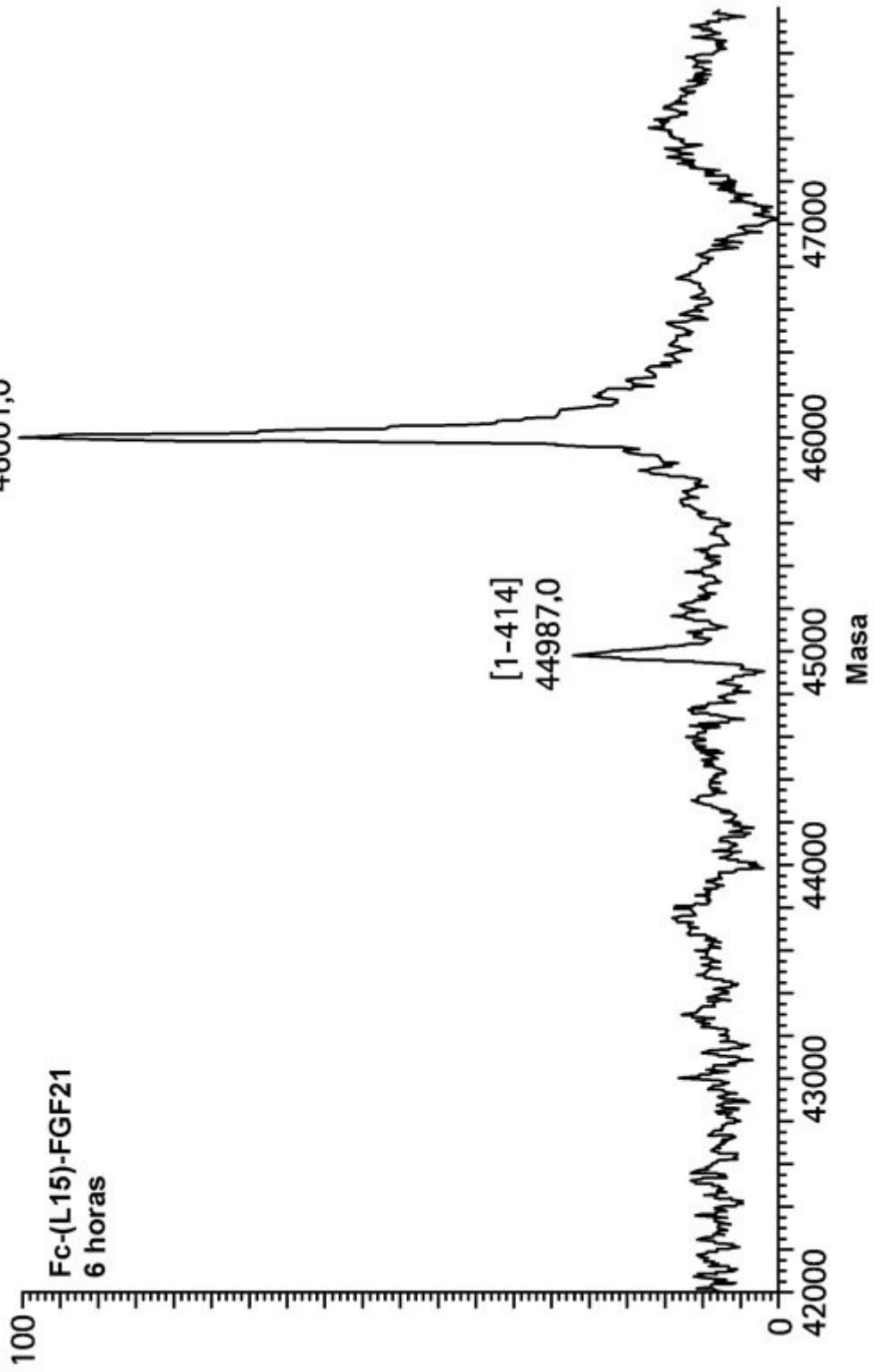

[1-424]
46001,0
[1-414]
44987,0
Fc-(L15)-FGF21
6 horas
100
0
42000
43000
44000
45000
46000
47000
Masa

FIG. 19C

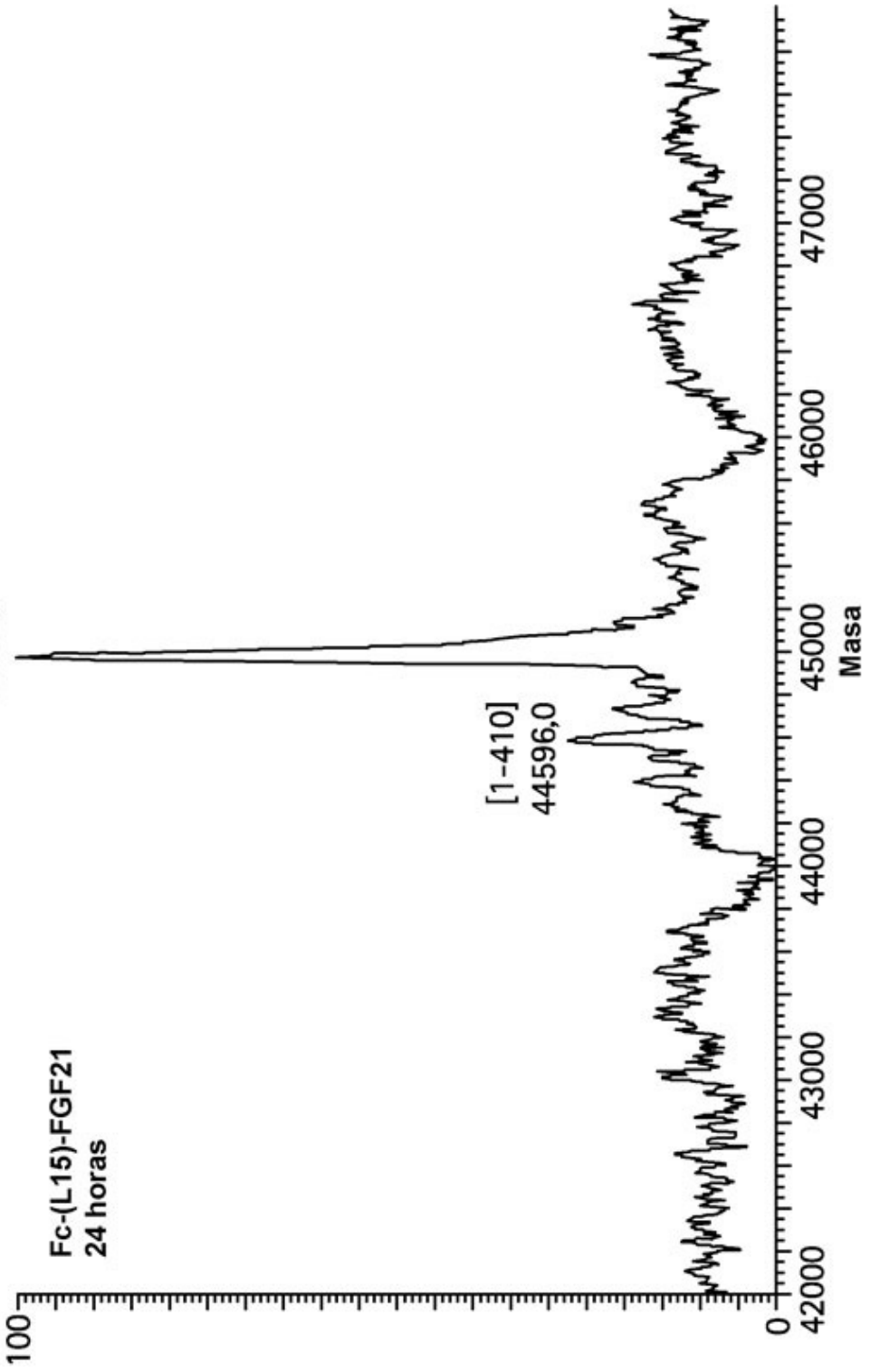

Fc-(L15)-FGF21
24 horas
[1-414]
44979,0
[1-410]
44596,0
100
0
42000
43000
44000
45000
46000
47000
Masa

FIG. 19D

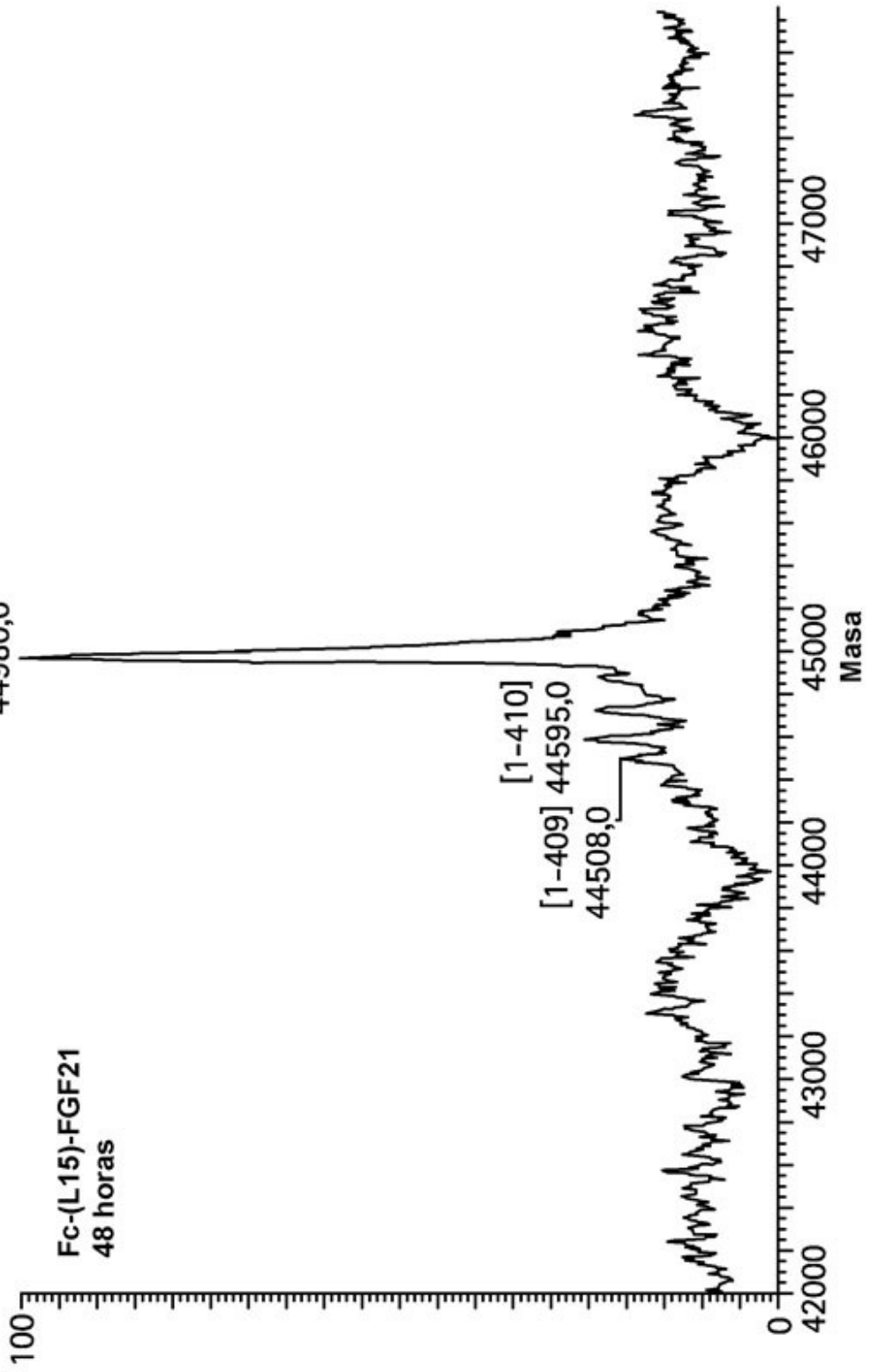

Fc-(L15)-FGF21
48 horas
100
0
[1-414]
44980,0
[1-410]
44595,0
[1-409]
44508,0
42000
43000
44000
45000
46000
47000
Masa

FIG. 20A

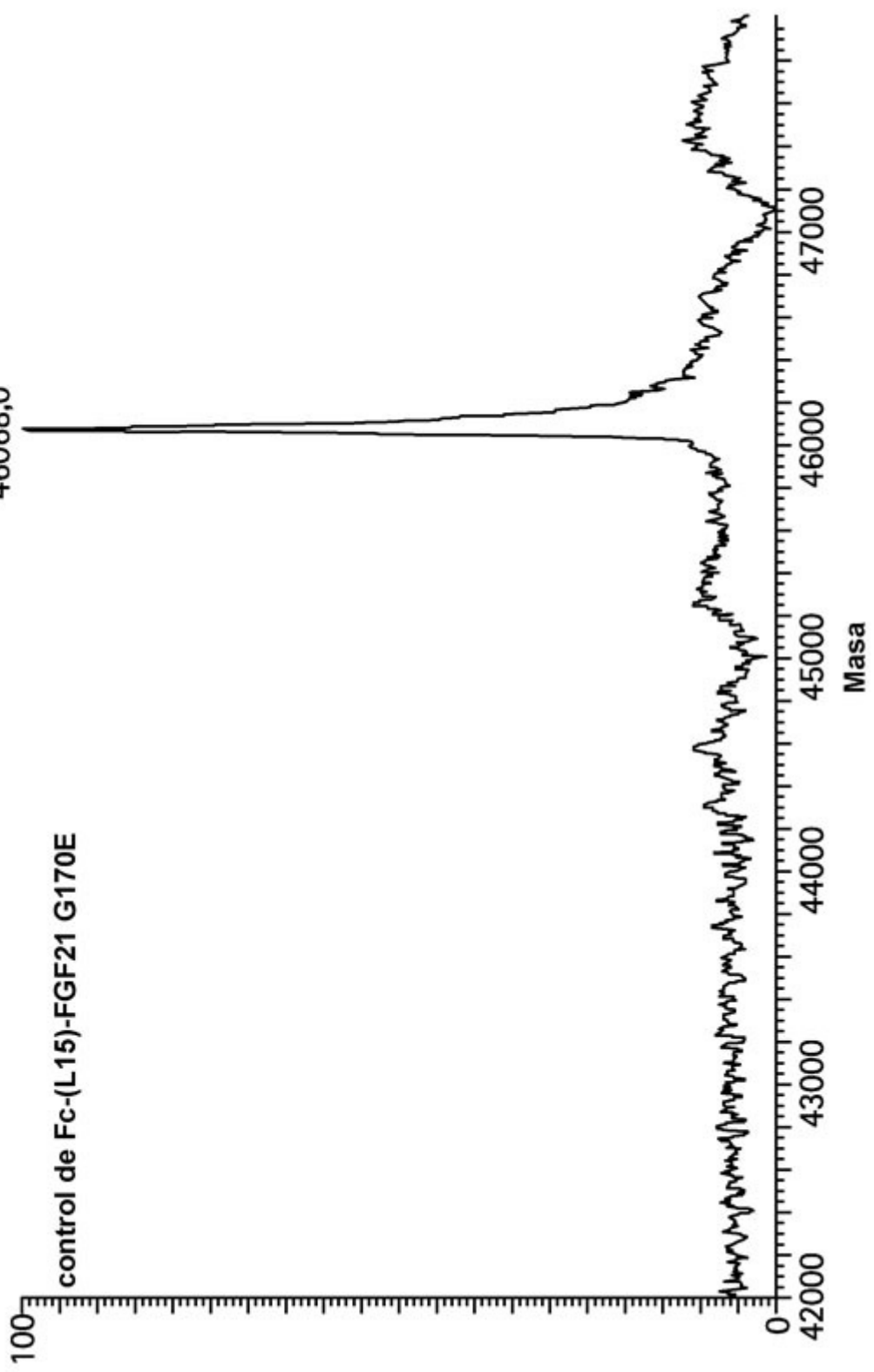

control de Fc-(L15)-FGF21 G170E
[1-424]
46068,0
100
0
42000
43000
44000
45000
46000
47000
Masa

FIG. 20B

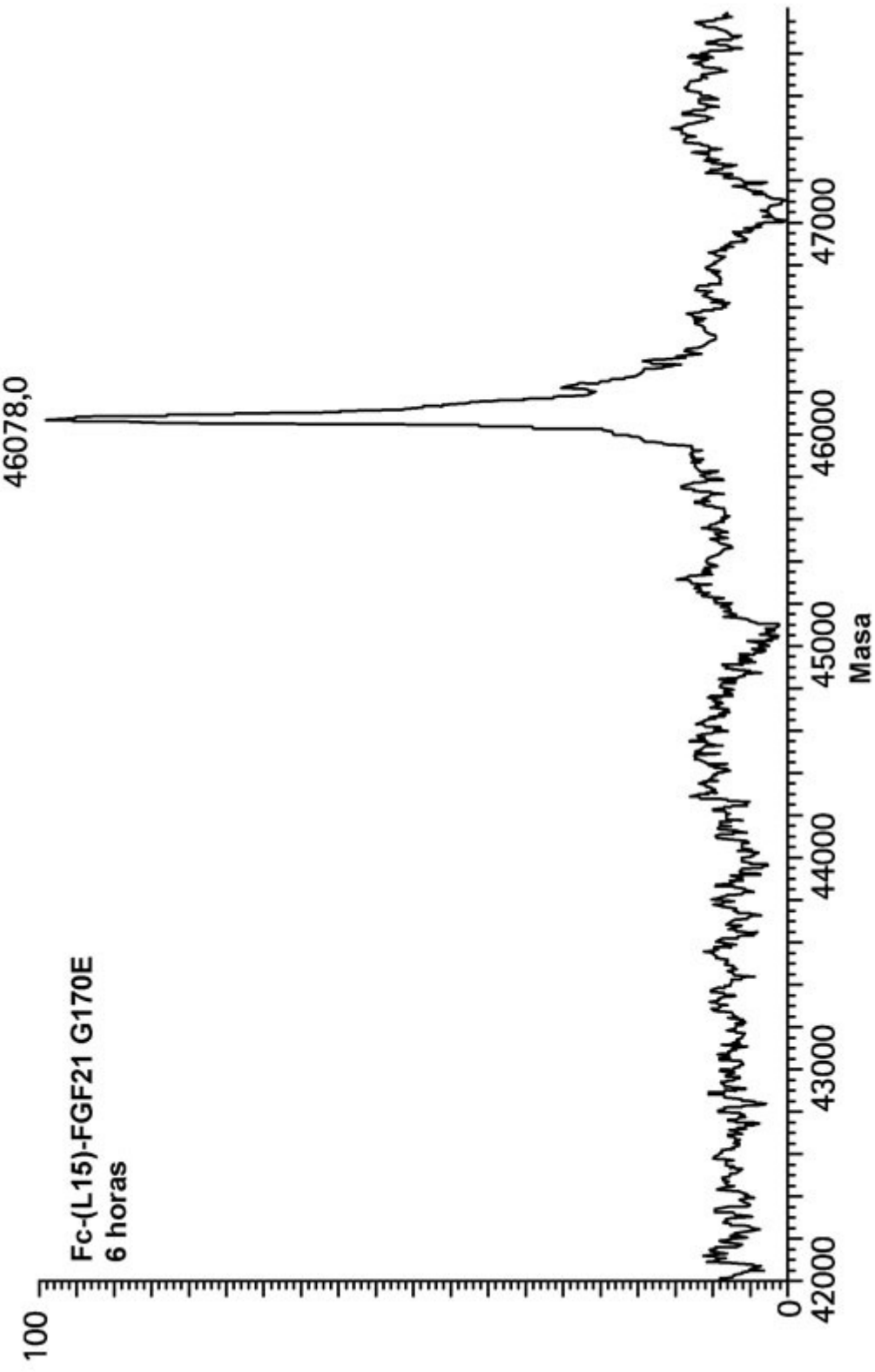

[1-424]
46078,0
Fc-(L15)-FGF21 G170E
6 horas
100
0
42000
43000
44000
45000
46000
47000
Masa

FIG. 20C

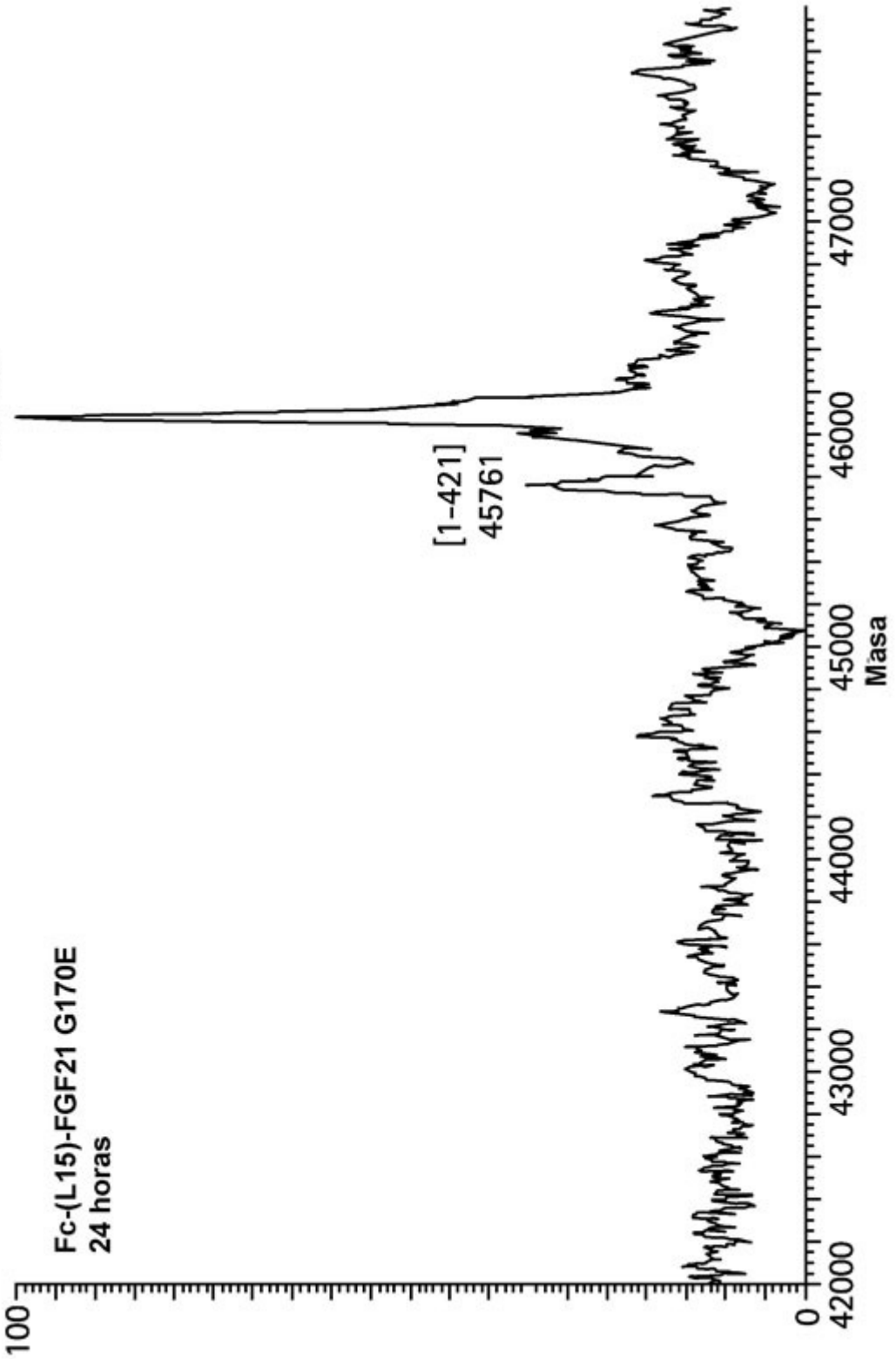

Fc-(L15)-FGF21 G170E
24 horas
100
0
42000
43000
44000
45000
46000
47000
Masa
[1-424]
46074,0
[1-421]
45761

FIG. 20D

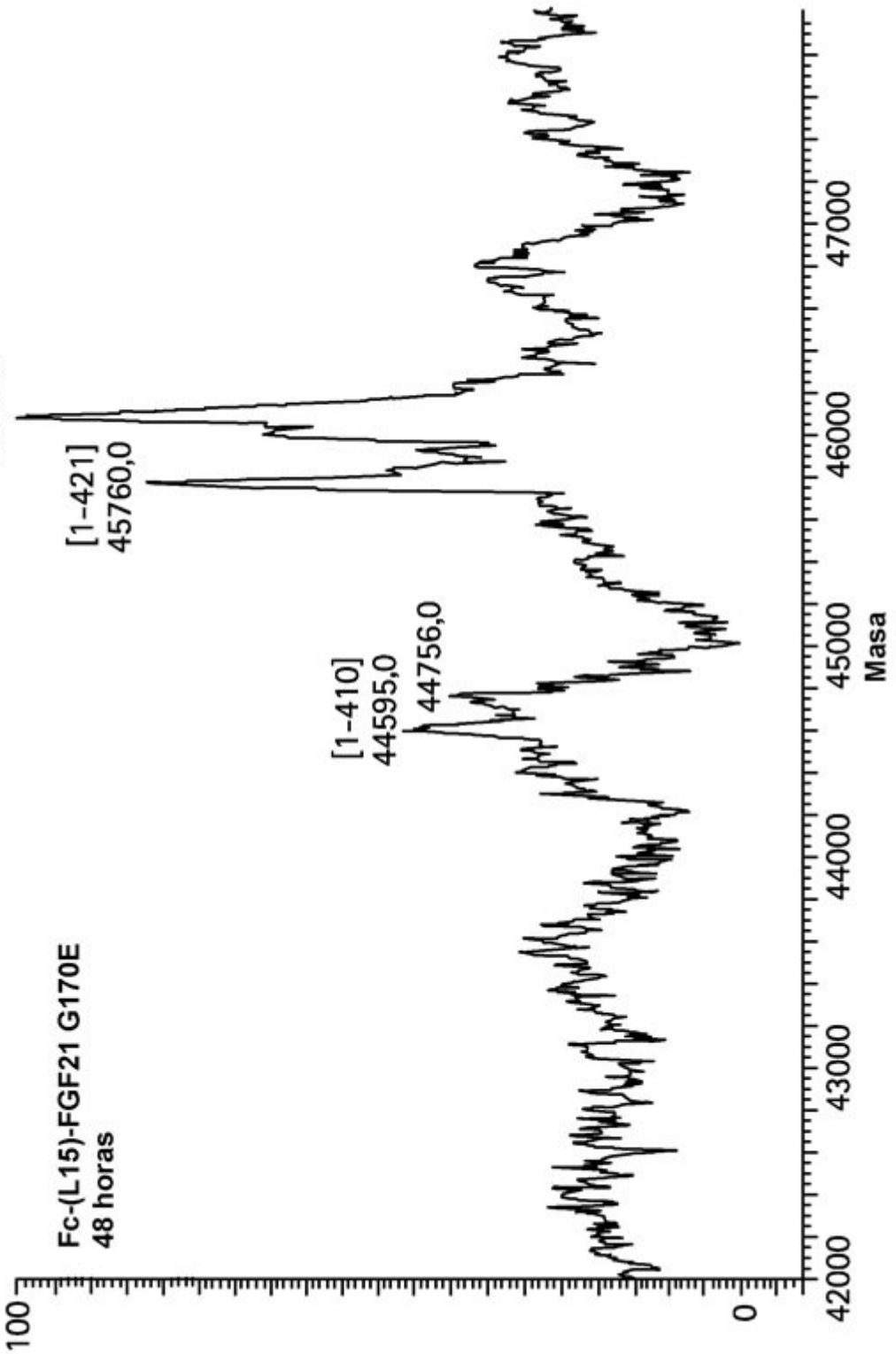

Fc-(L15)-FGF21 G170E
48 horas
[1-424]
46072,0
[1-421]
45760,0
[1-410]
44595,0
44756,0
100
0
42000
43000
44000
45000
46000
47000
Masa

FIG. 21A

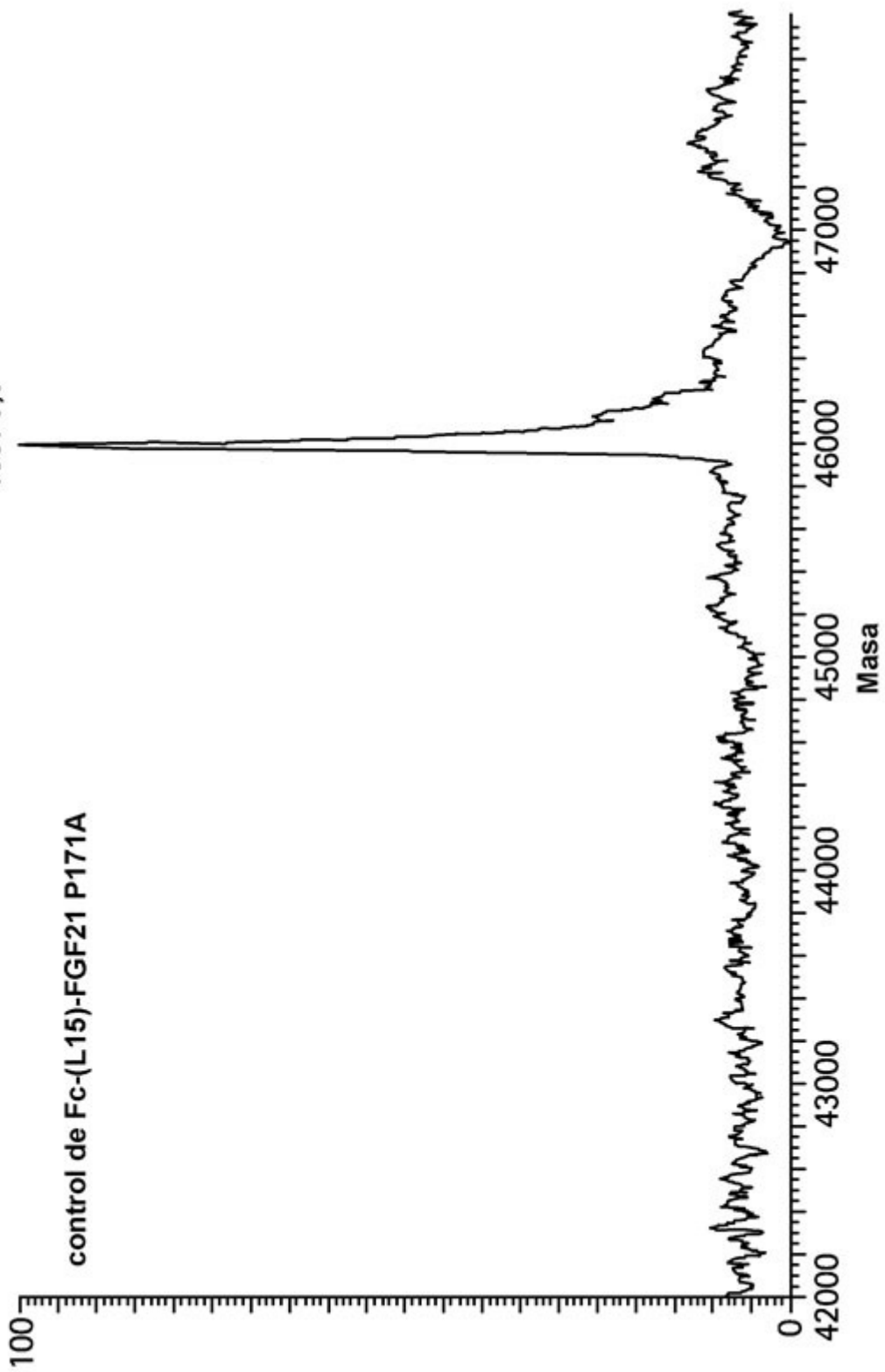

[1-424]
45970,0
control de Fc-(L15)-FGF21 P171A
100
0
42000
43000
44000
45000
46000
47000
Masa

FIG. 21B

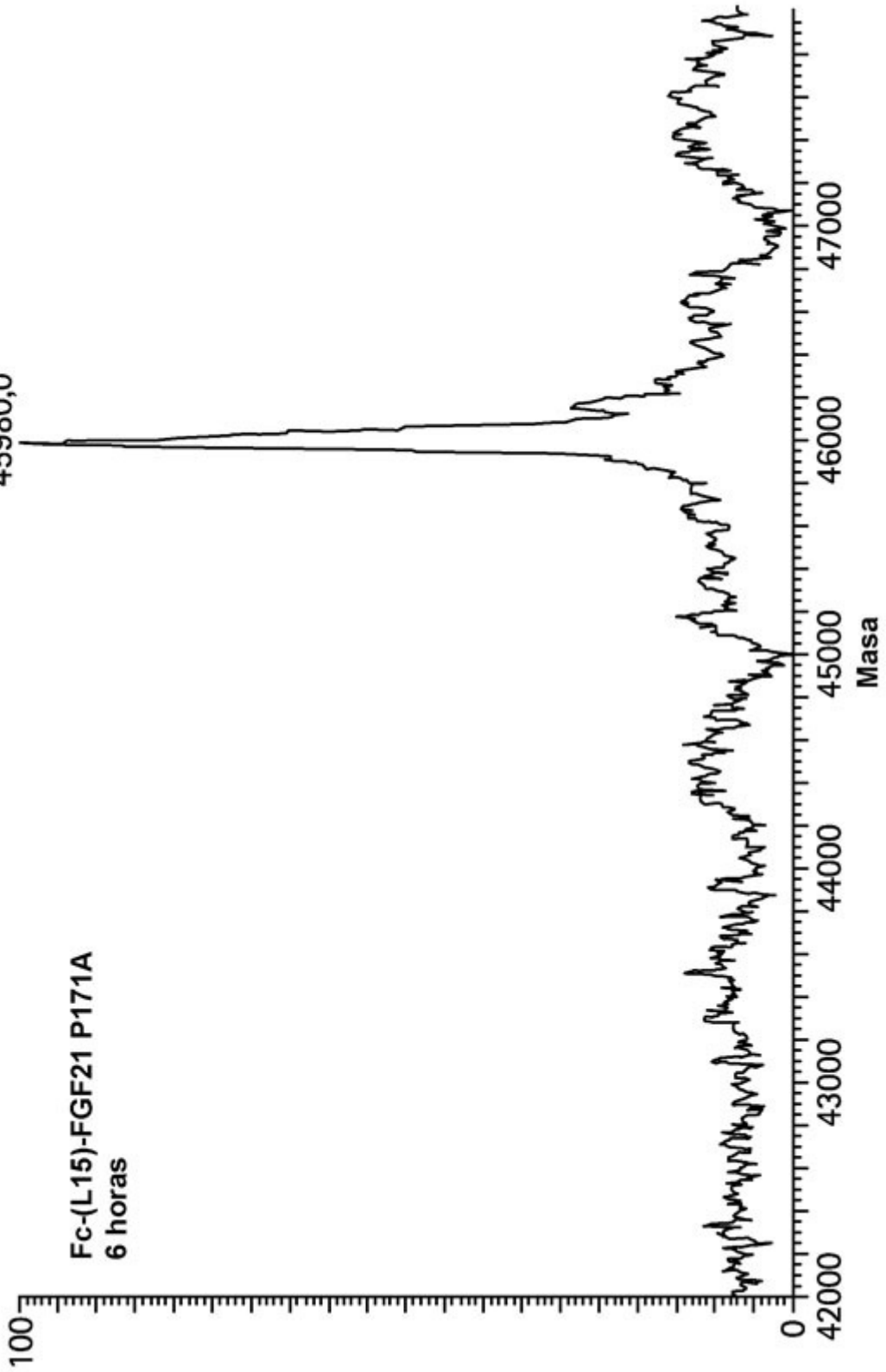

[1-424]
45980,0
Fc-(L15)-FGF21 P171A
6 horas
100
0
42000
43000
44000
45000
46000
47000
Masa

FIG. 21C

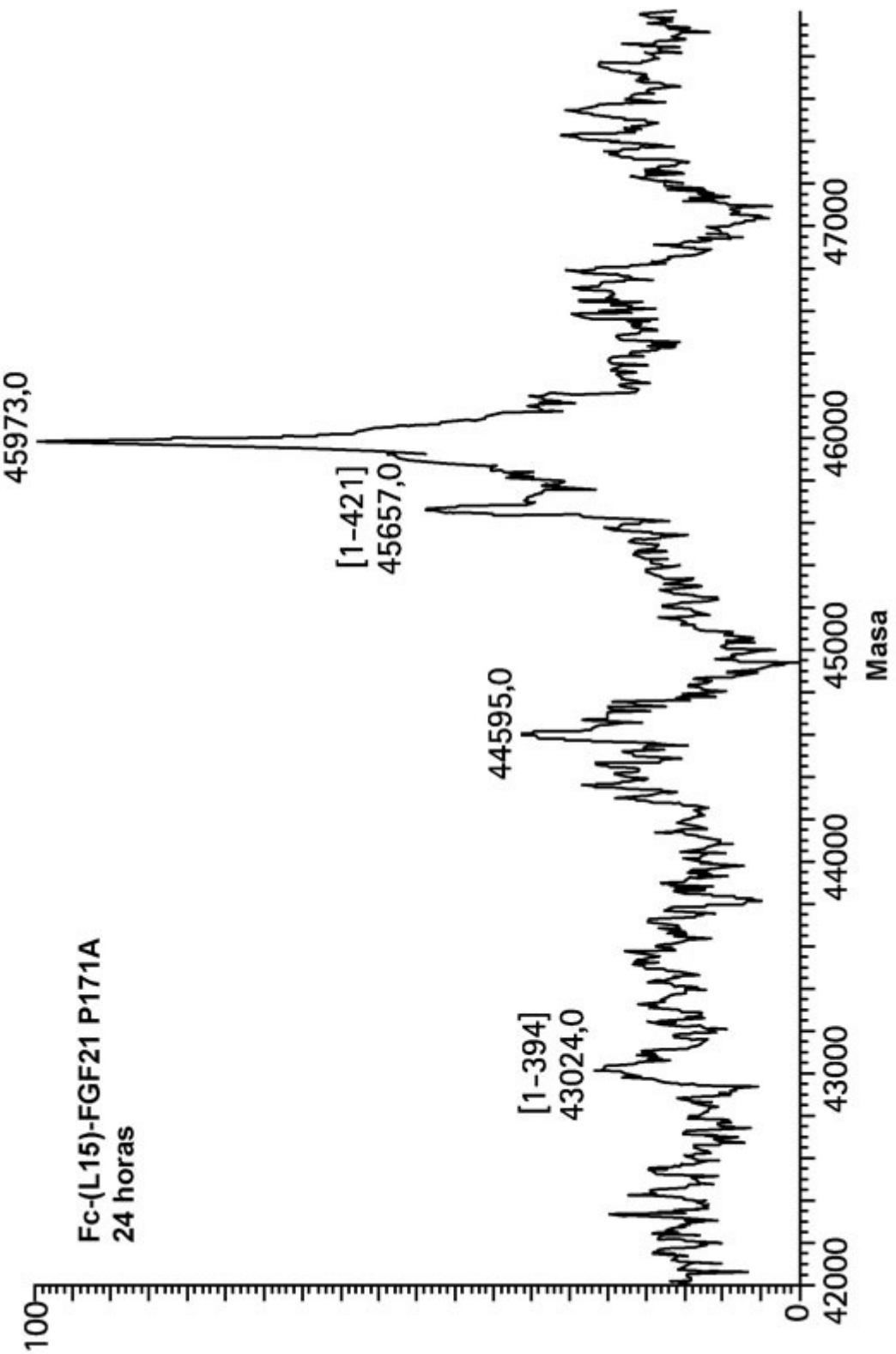

Fc-(L15)-FGF21 P171A
24 horas
100
0
[1-424]
45973,0
[1-421]
45657,0
44595,0
[1-394]
43024,0
42000
43000
44000
45000
46000
47000
Masa

FIG. 21D

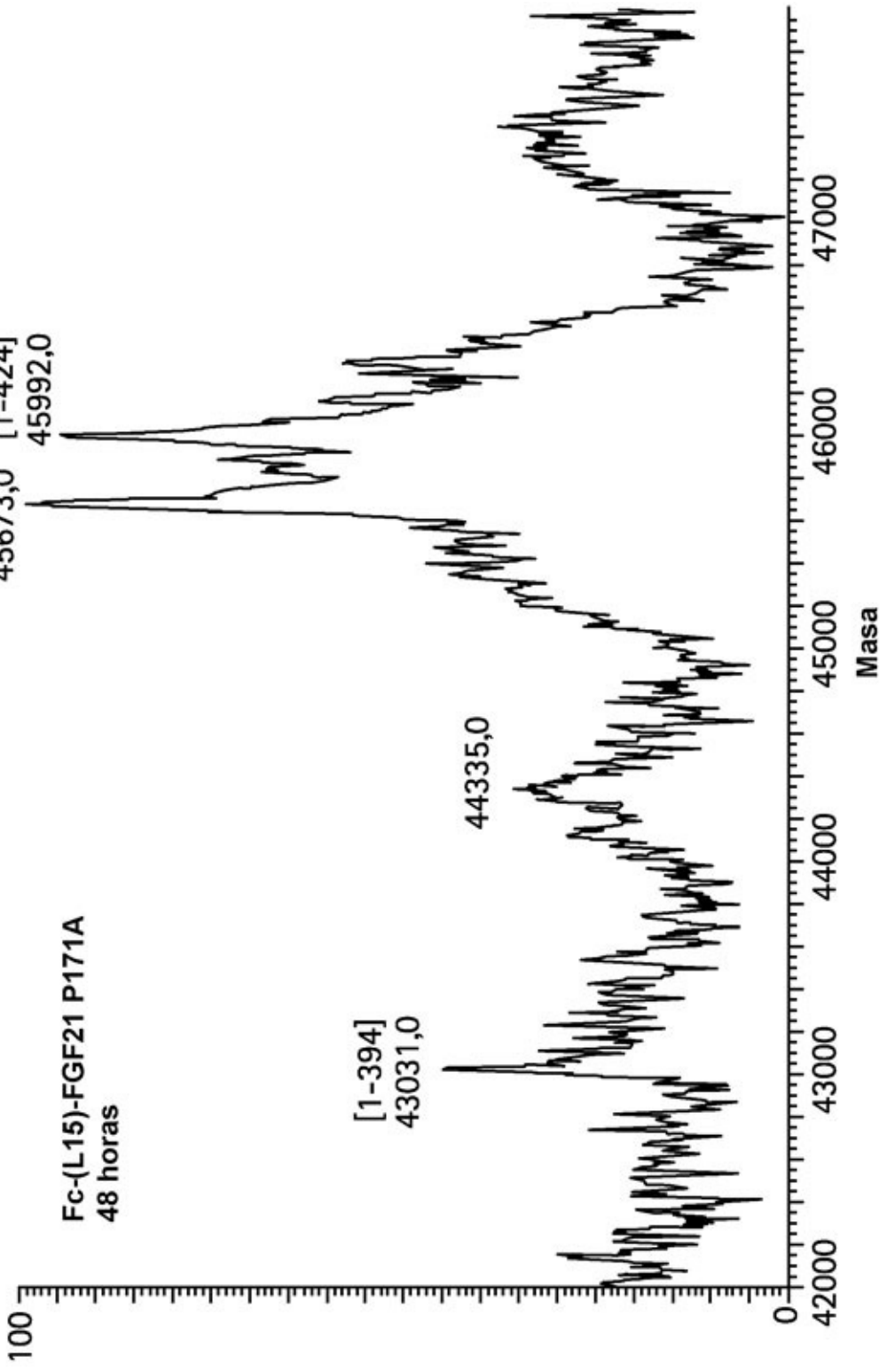

Fc-(L15)-FGF21 P171A
48 horas
[1-421]
45673,0
[1-424]
45992,0
44335,0
[1-394]
43031,0
100
0
42000
43000
44000
45000
46000
47000
Masa

FIG. 22A

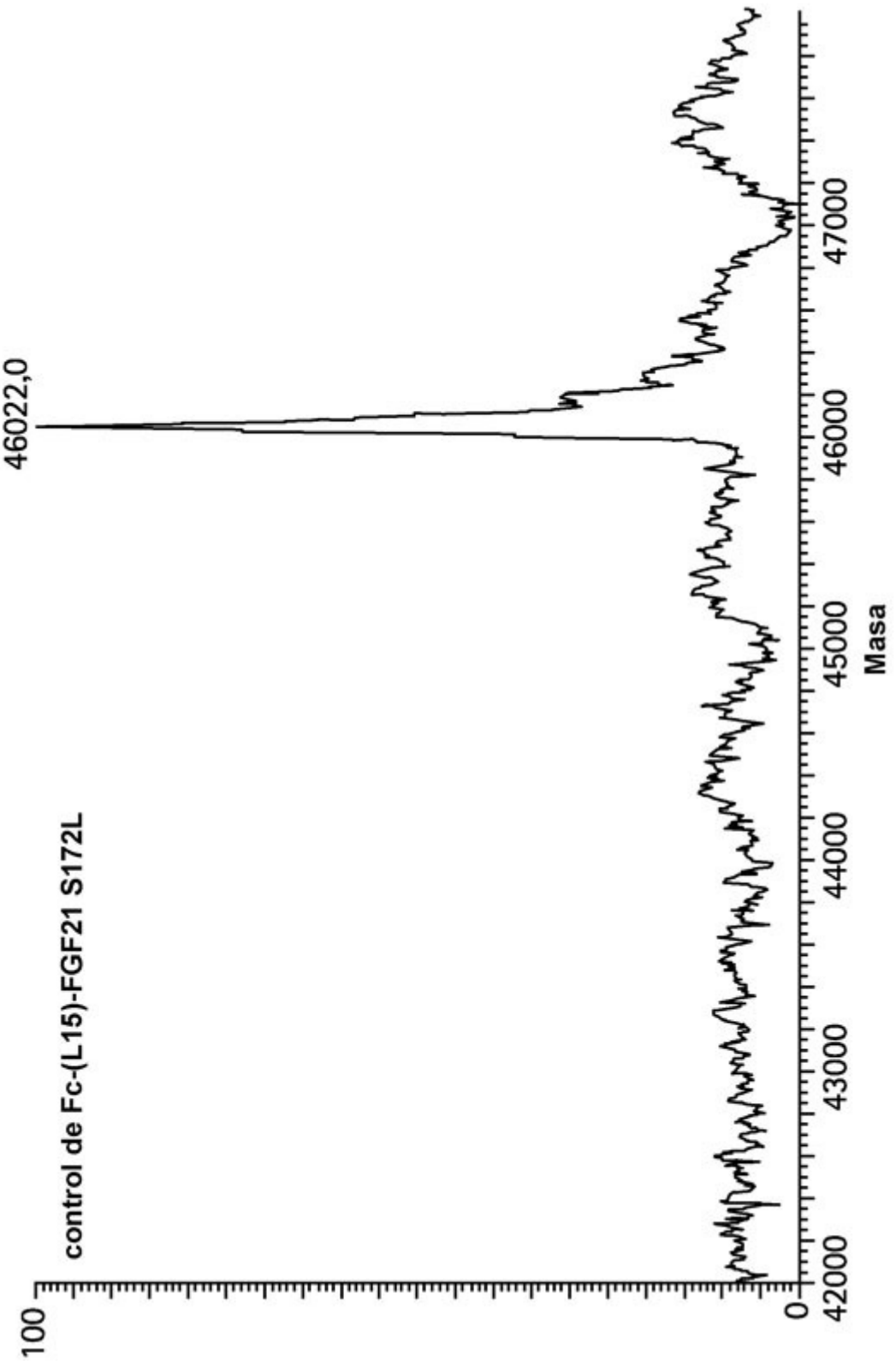

[1-424]
46022,0
control de Fc-(L15)-FGF21 S172L
100
0
42000
43000
44000
45000
46000
47000
Masa

FIG. 22B

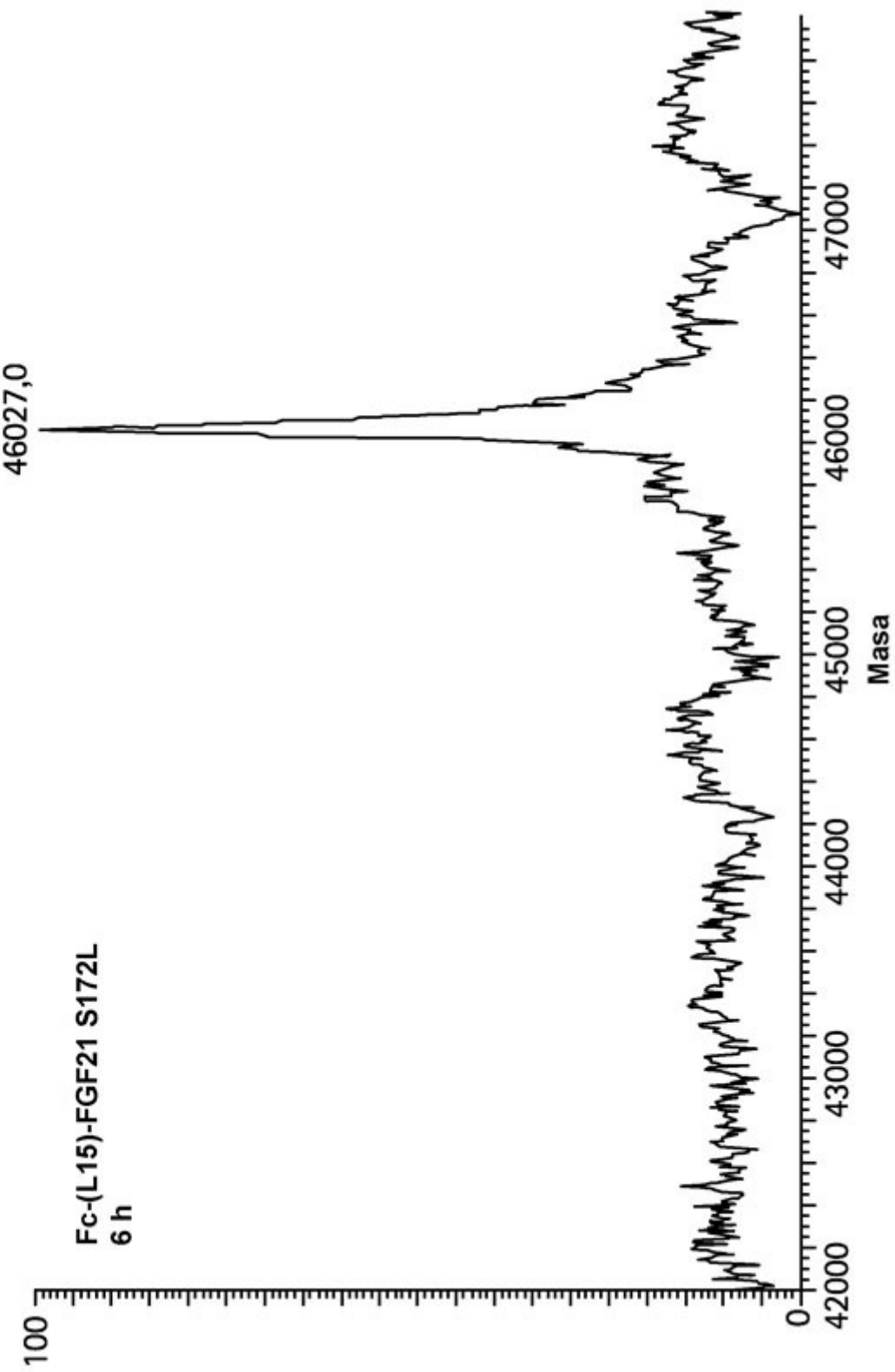

[1-424]
46027,0
Fc-(L15)-FGF21 S172L
6 h
100
0
42000
43000
44000
45000
46000
47000
Masa

FIG. 22C

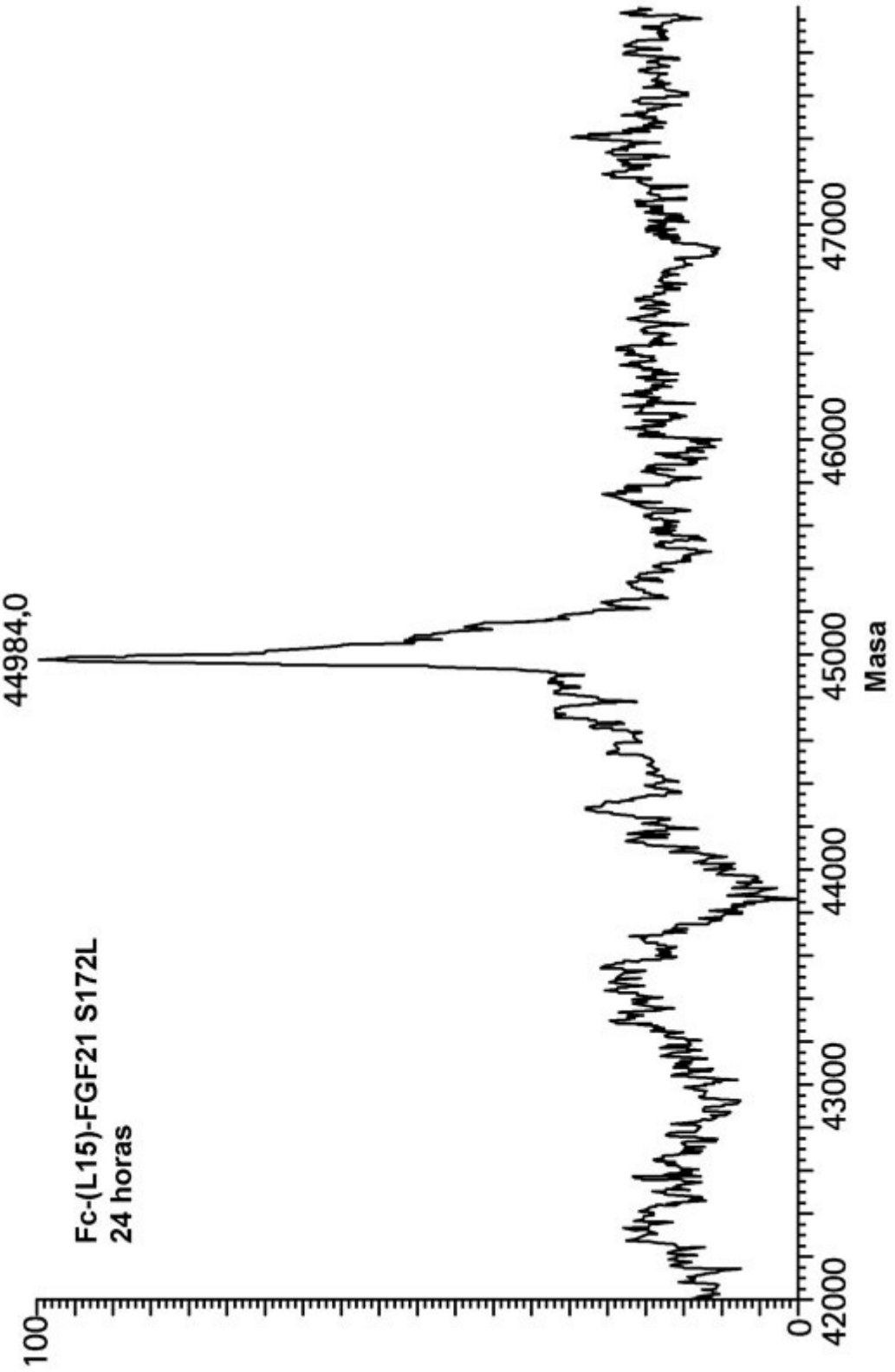

[1-414]
44984,0
Fc-(L15)-FGF21 S172L
24 horas
100
0
42000
43000
44000
45000
46000
47000
Masa

FIG. 22D

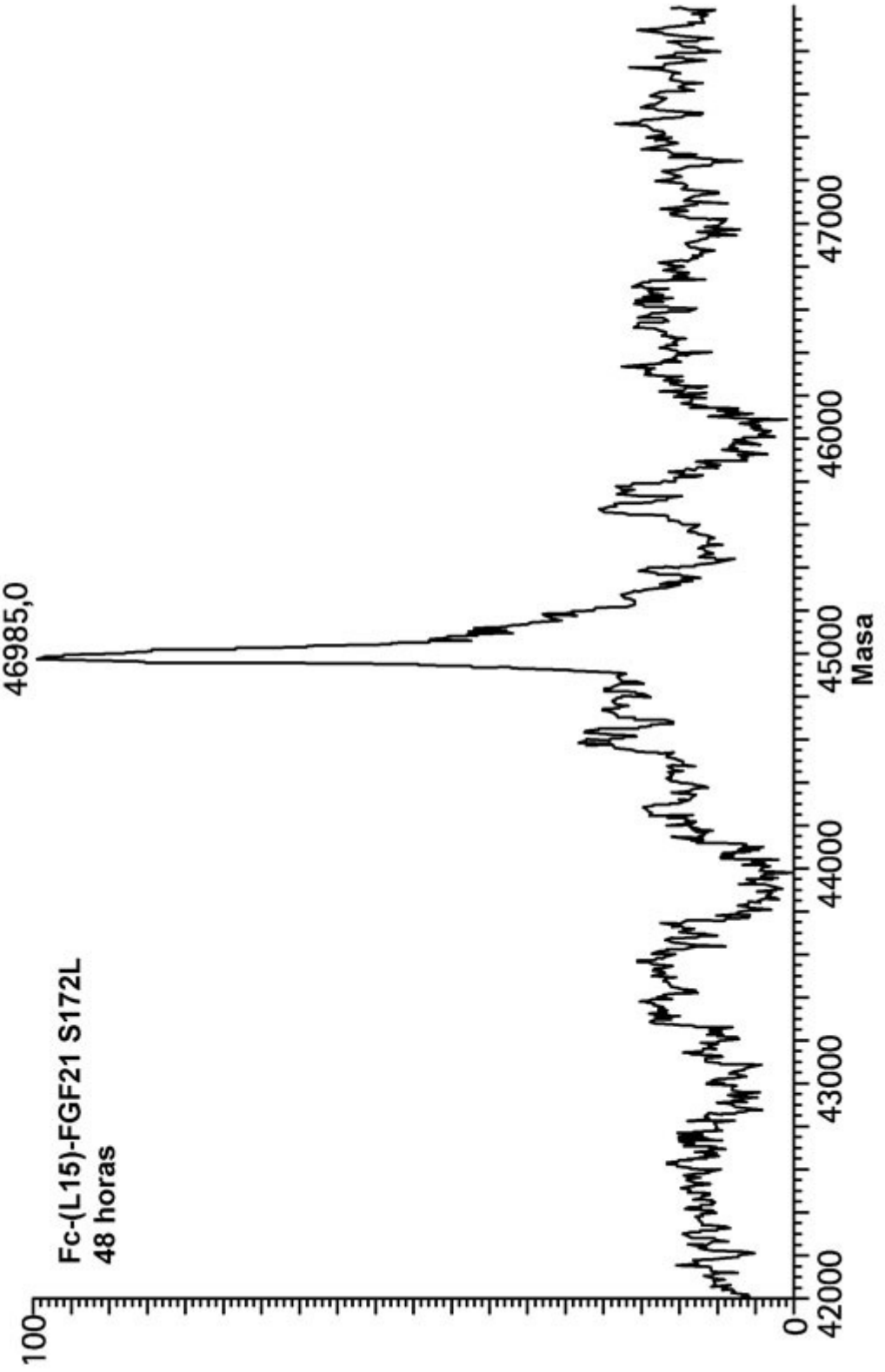

[1-414]
46985,0
Fc-(L15)-FGF21 S172L
48 horas
100
0
42000
43000
44000
45000
46000
47000
Masa

FIG. 23A

Fc-(L15)-FGF21

MDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*GGGGSGGGSGG*
GGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQR
PDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQP
PDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS

6 h (20%)
24 h(100%) [1-414]
48 h(~100%)

FIG. 23B

Fc-(L15)-FGF21 G170E

MDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*GGGGSGGGSGG*
*GGSH*IPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQR
PDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQP
PDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS

6 h (0%)
24 h (20%) [1-442]
48 h (~40%)

FIG. 23C

Fc-(L15)-FGF21 P171A

MDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*GGGGSGGGSGG*
*GGSH*IPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQR
PDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQP
PDVGSSDPLSMVGASQGRSPSYAS

6 h (0%)
24 h (~30%) [1-421]
48 h (~50%)

FIG. 23D

Fc-(L15)-FGF21 S172L

FIG. 24A

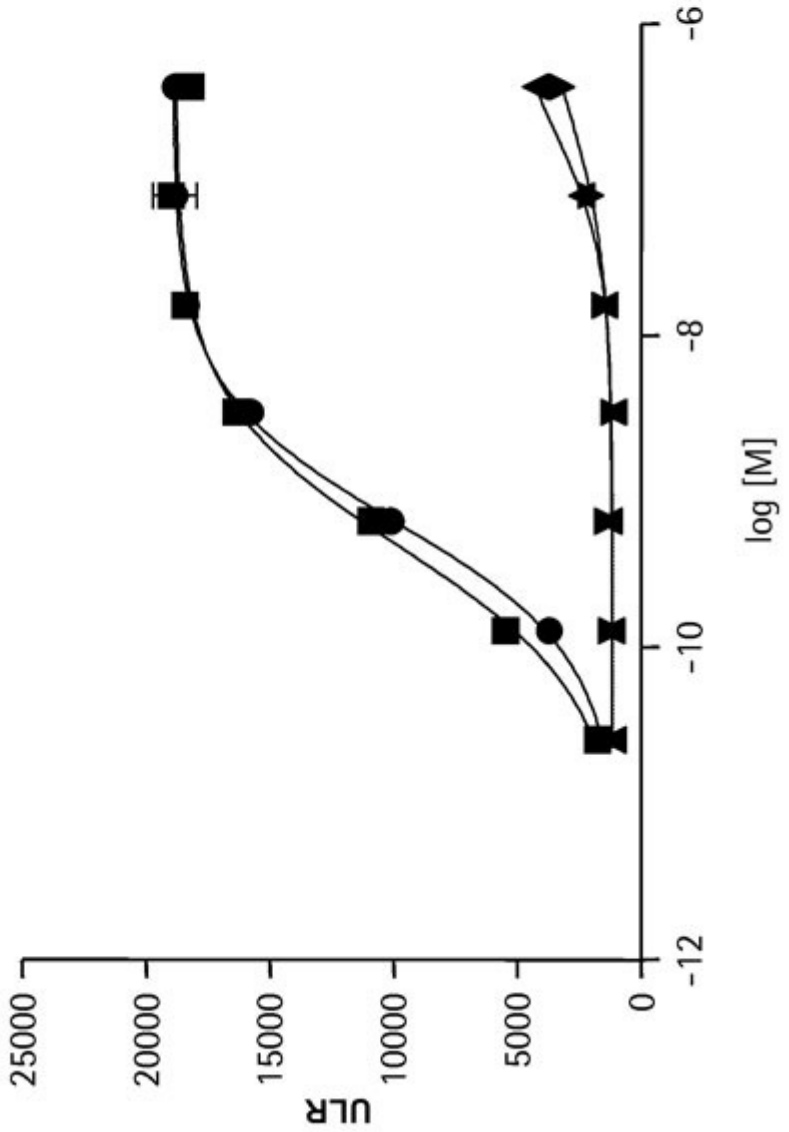

FGF21
FGF21 L99R
FGF21 L99D
FGF21 A111T
ULR
25000
20000
15000
10000
5000
0
-12
-10
-8
-6
log [M]

FIG. 24B

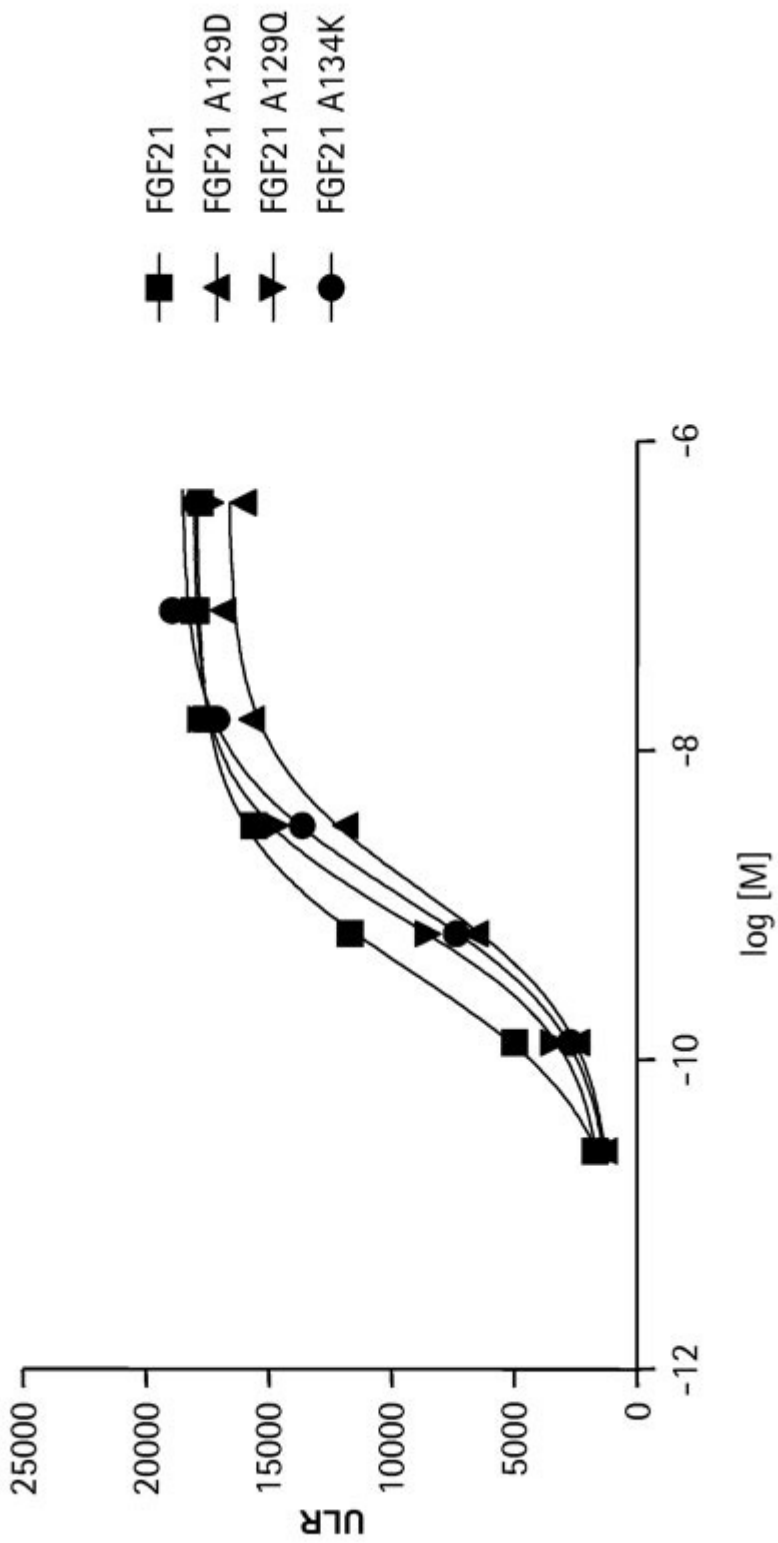

FGF21
FGF21 A129D
FGF21 A129Q
FGF21 A134K
ULR
25000
20000
15000
10000
5000
0
-12
-10
-8
-6
log [M]

FIG. 24C

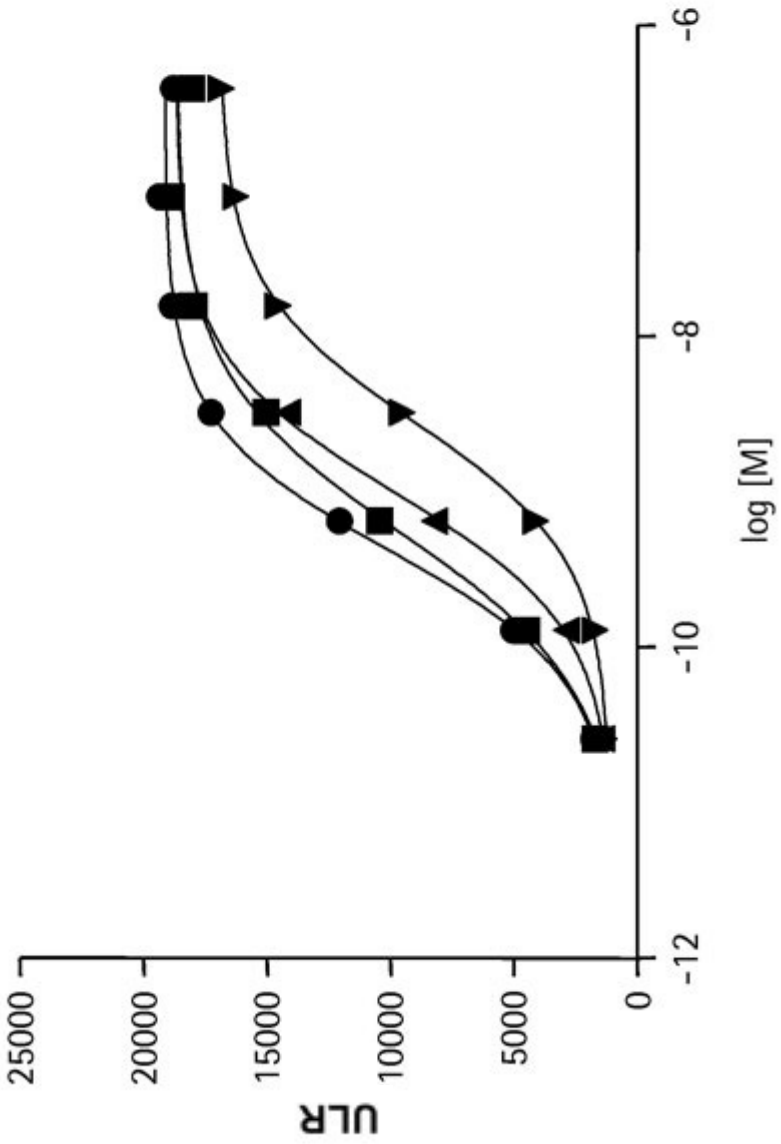

FGF21
FGF21 A134Y
FGF21 A134E
FGF21 A129K
ULR
25000
20000
15000
10000
5000
0
-12
-10
-8
-6
log [M]

FIG. 25A

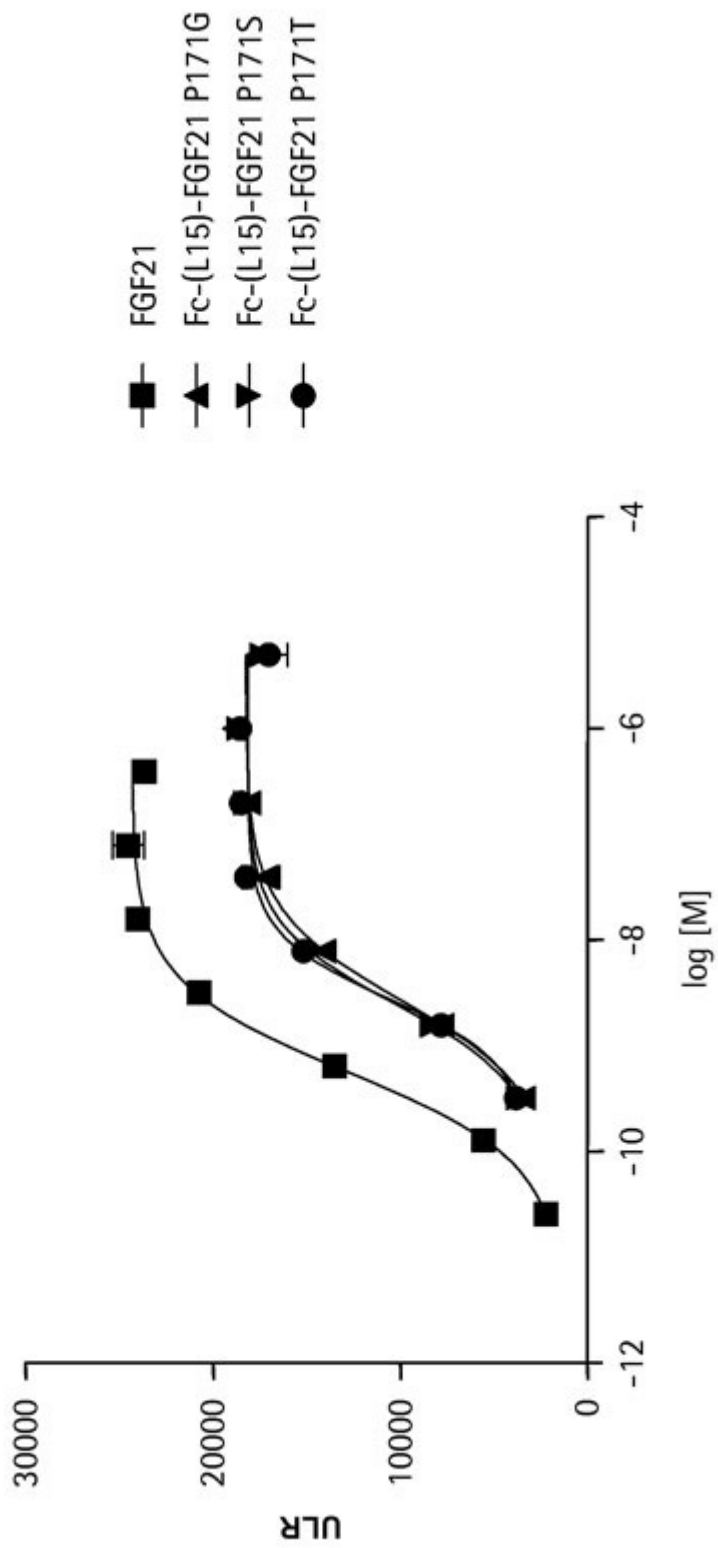

FGF21
Fc-(L15)-FGF21 P171G
Fc-(L15)-FGF21 P171S
Fc-(L15)-FGF21 P171T
ULR
30000
20000
10000
0
-12
-10
-8
-6
-4
log [M]

FIG. 25B

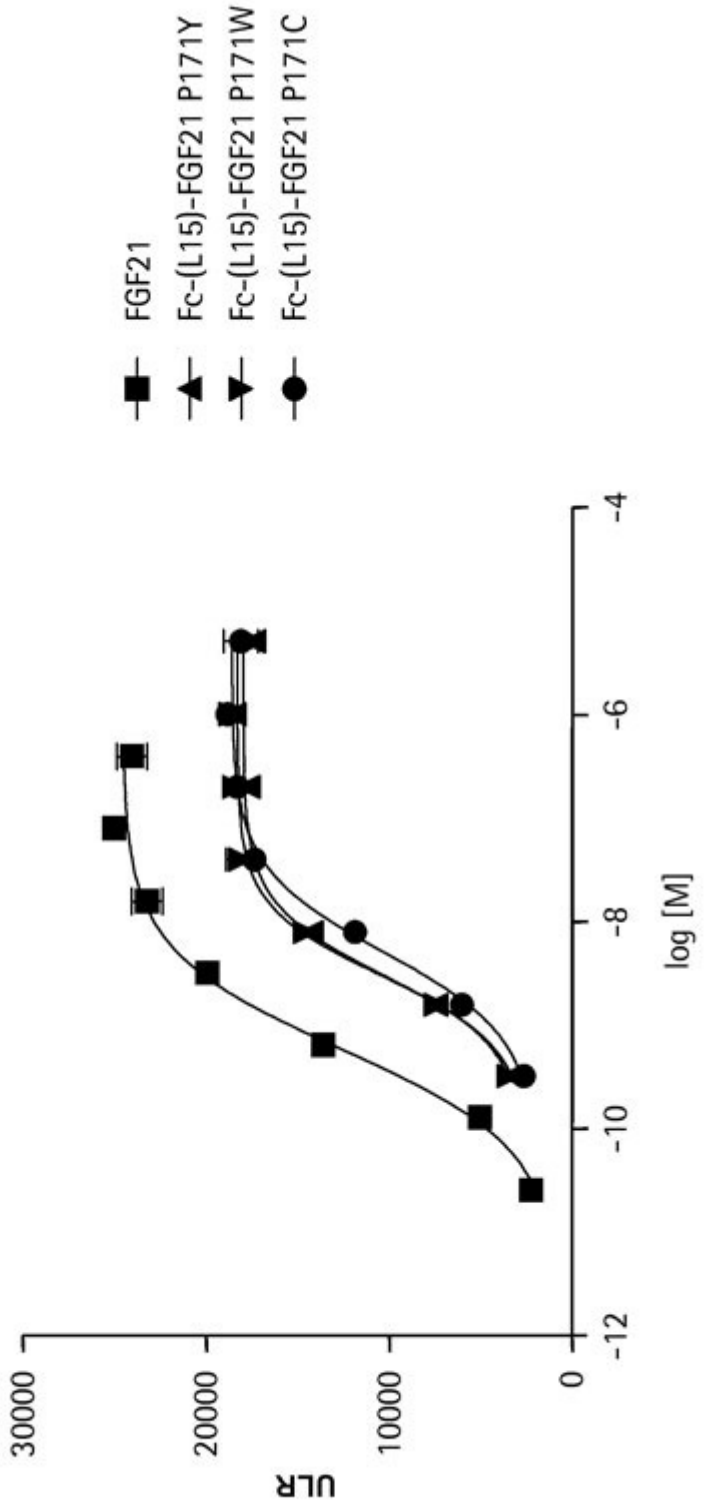

FGF21
Fc-(L15)-FGF21 P171Y
Fc-(L15)-FGF21 P171W
Fc-(L15)-FGF21 P171C
ULR
30000
20000
10000
0
-12
-10
-8
-6
-4
log [M]

FIG. 25C

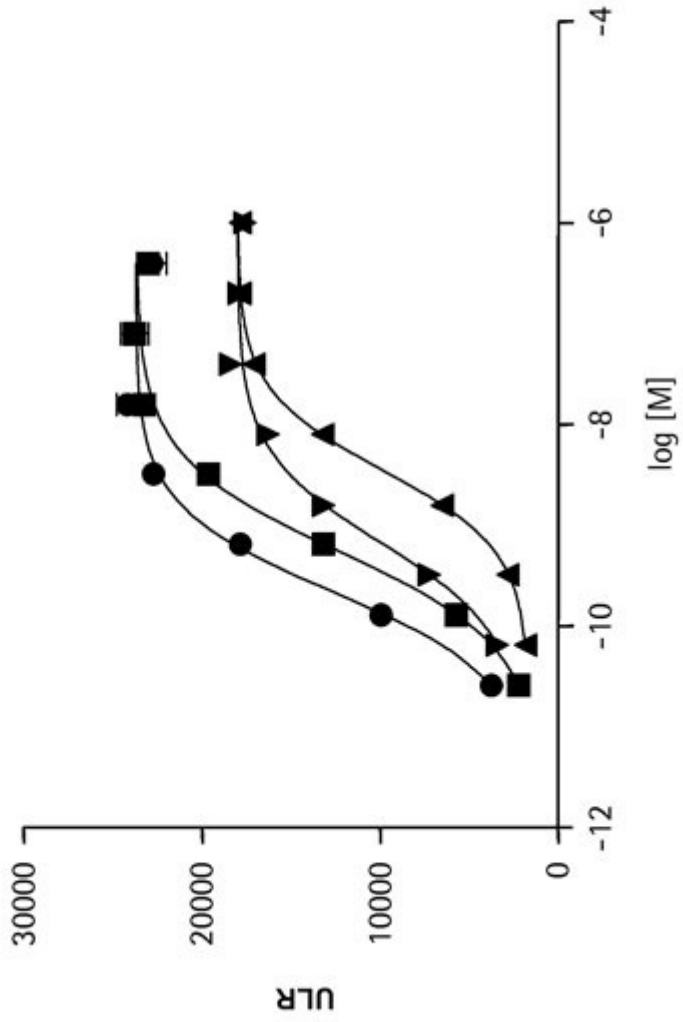

FGF21
Fc-(L15)-FGF21
Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E)
FGF21 A45K
ULR
30000
20000
10000
0
-12
-10
-8
-6
-4
log [M]

FIG. 25D

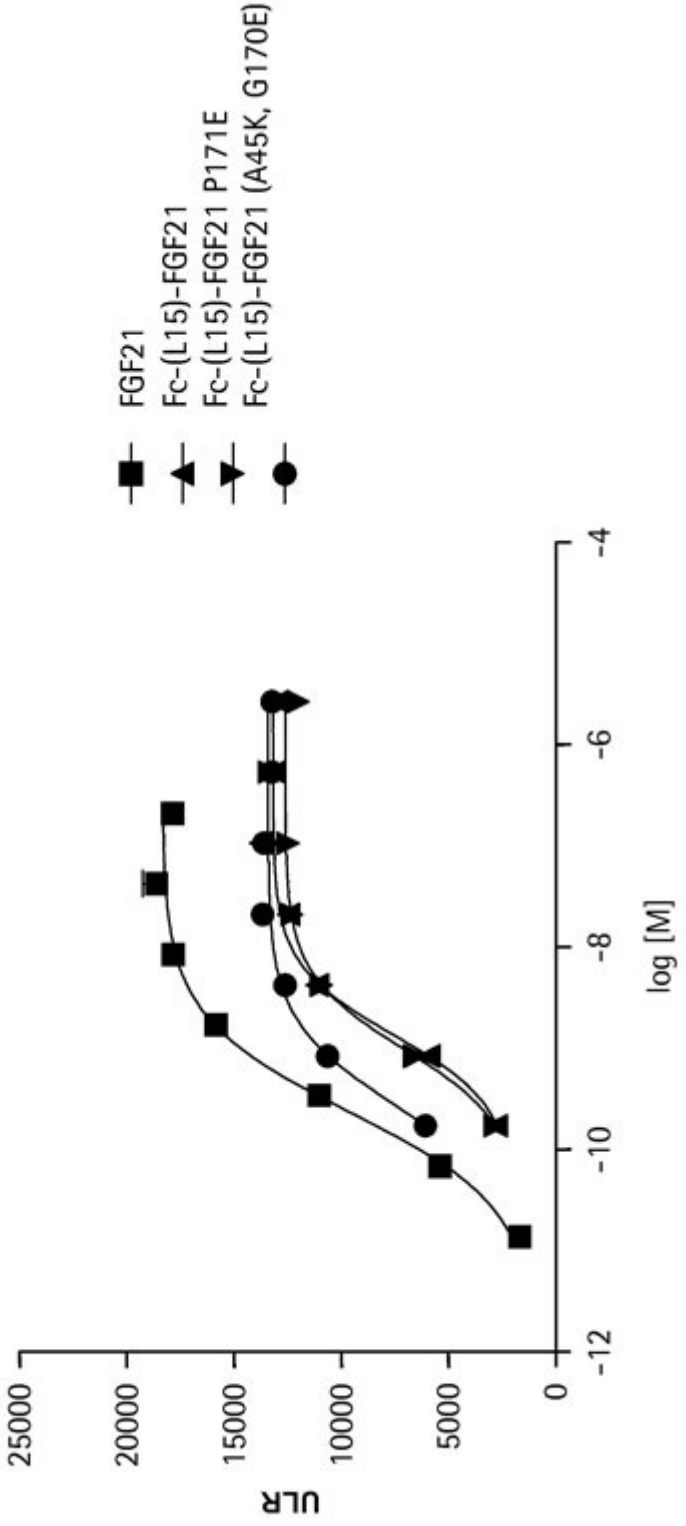

FGF21
Fc-(L15)-FGF21
Fc-(L15)-FGF21 P171E
Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E)
ULR
25000
20000
15000
10000
5000
0
-12
-10
-8
-6
-4
log [M]

FIG. 26A

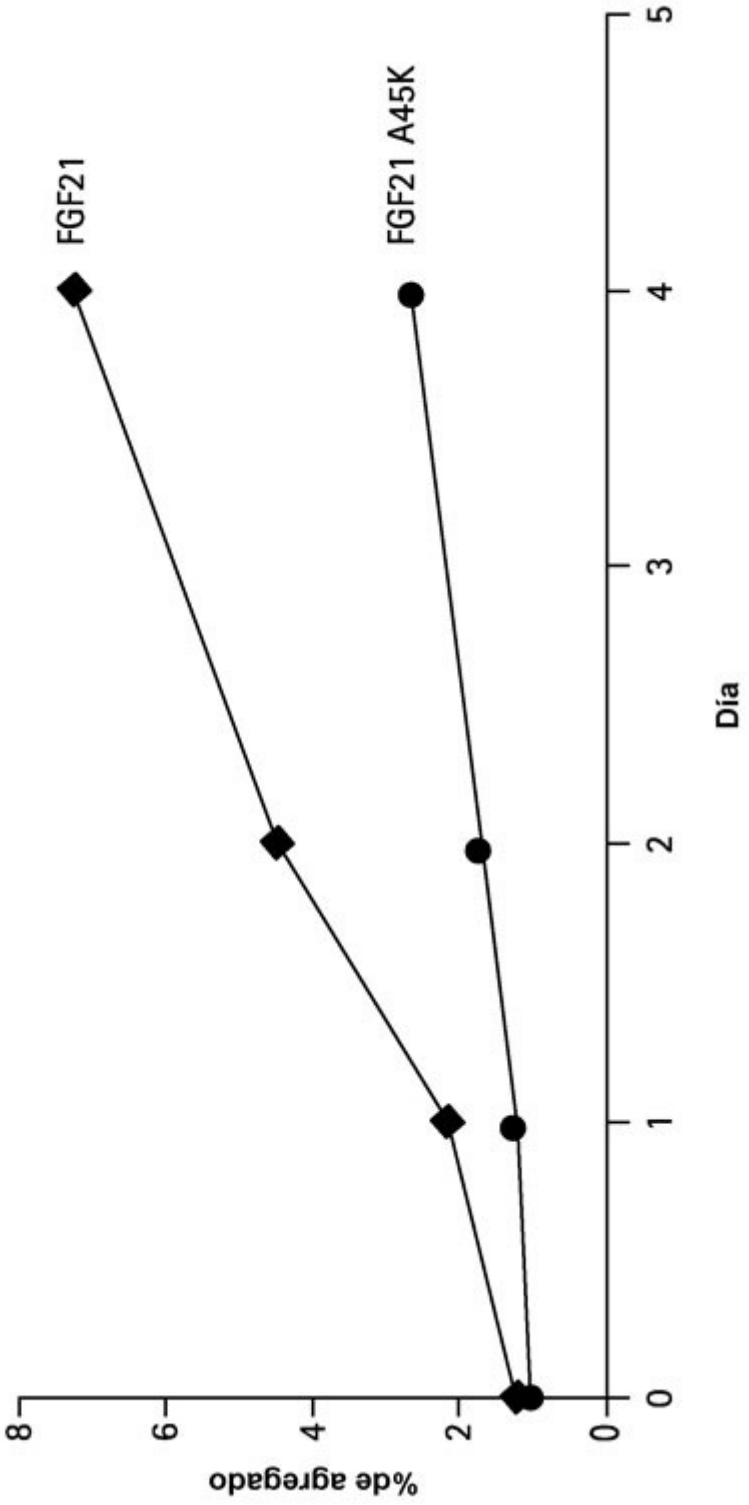


FIG. 26B

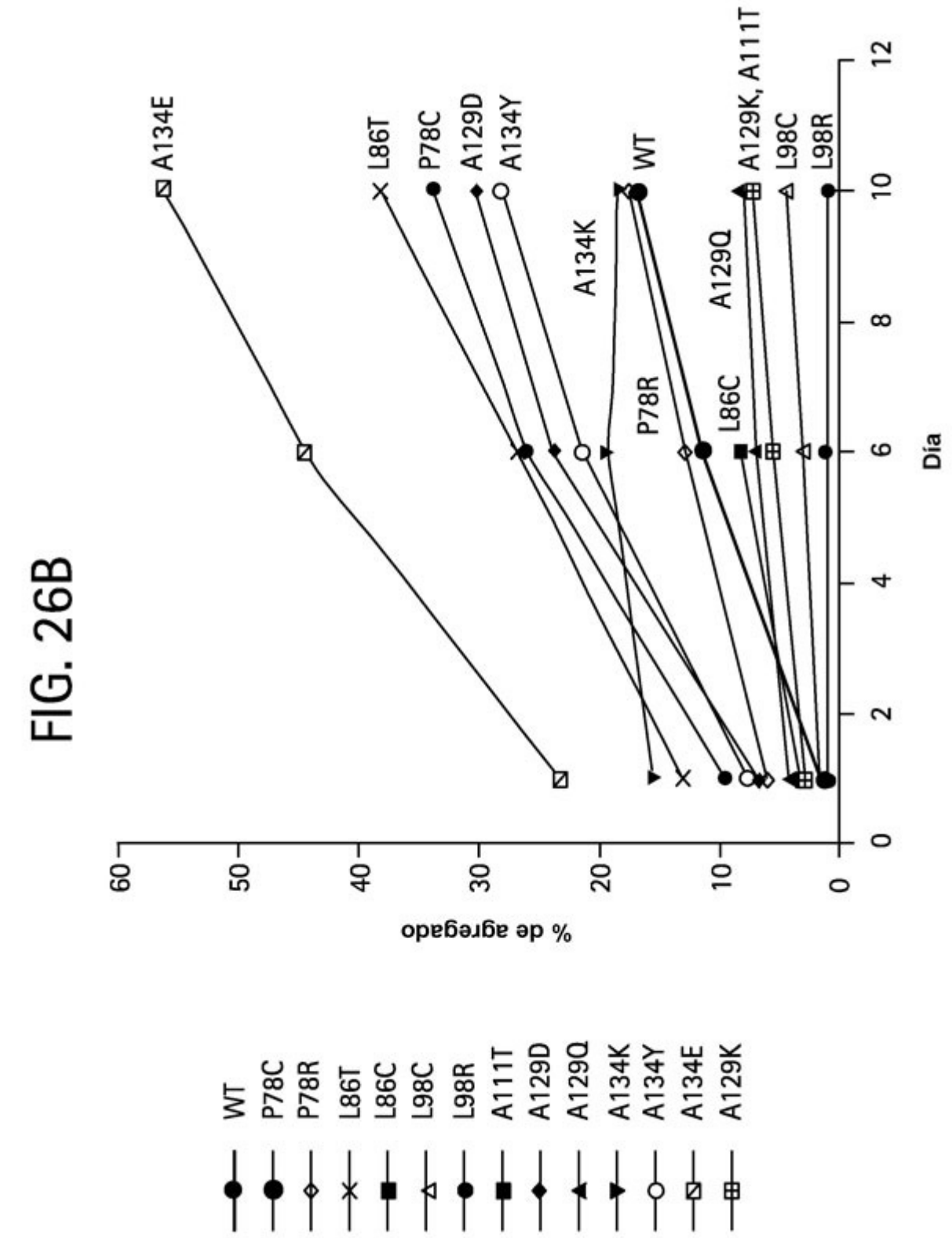

% de agregado
Día
0
10
20
30
40
50
60
0
2
4
6
8
10
12
A134E
L86T
P78C
A129D
A134Y
A134K
WT
P78R
L86C
A129Q
A129K, A111T
L98C
L98R
WT
P78C
P78R
L86T
L86C
L98C
L98R
A111T
A129D
A129Q
A134K
A134Y
A134E
A129K

FIG. 27

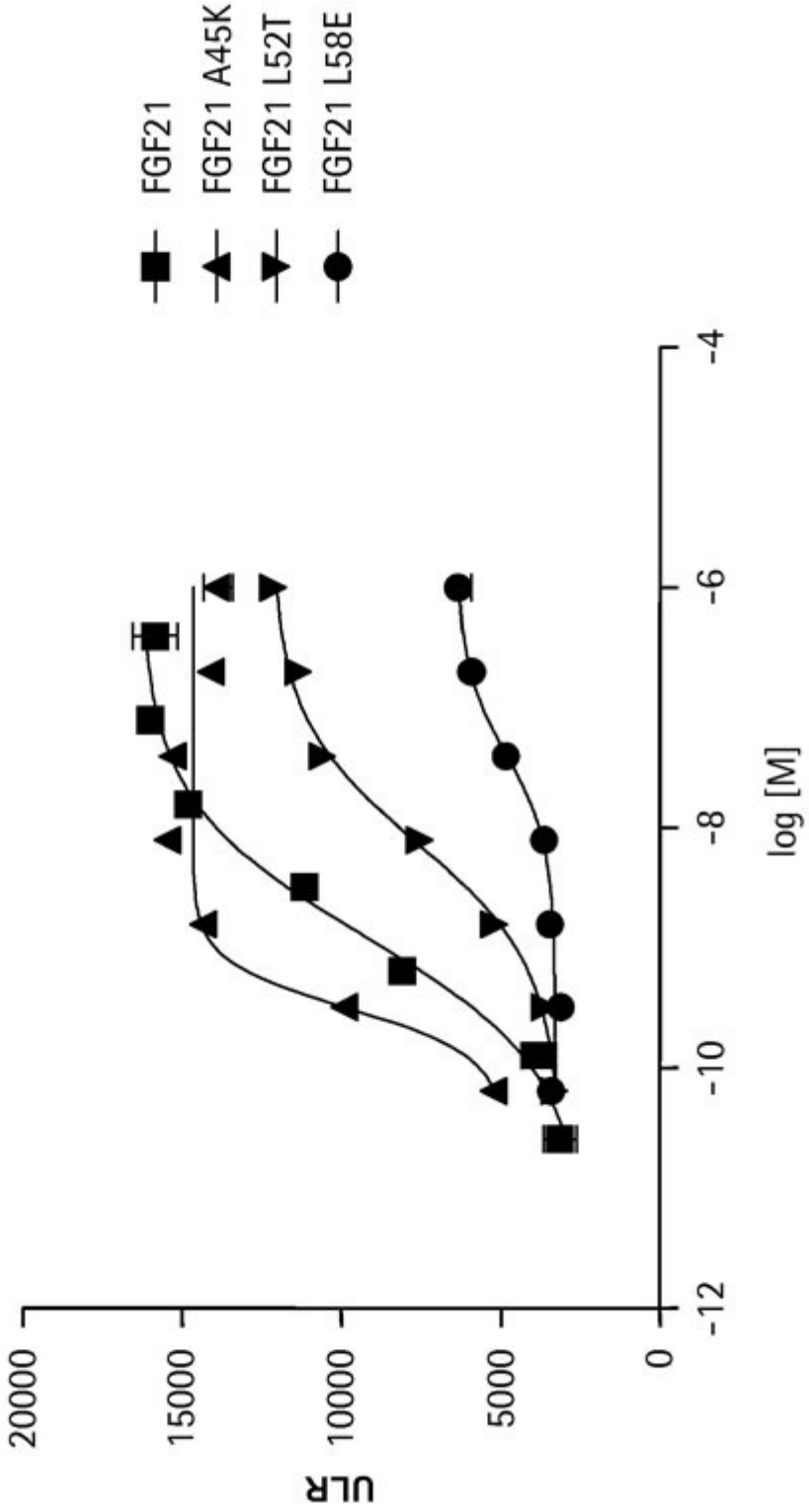

FGF21
FGF21 A45K
FGF21 L52T
FGF21 L58E
ULR
20000
15000
10000
5000
0
-12
-10
-8
-6
-4
log [M]

FIG. 28A

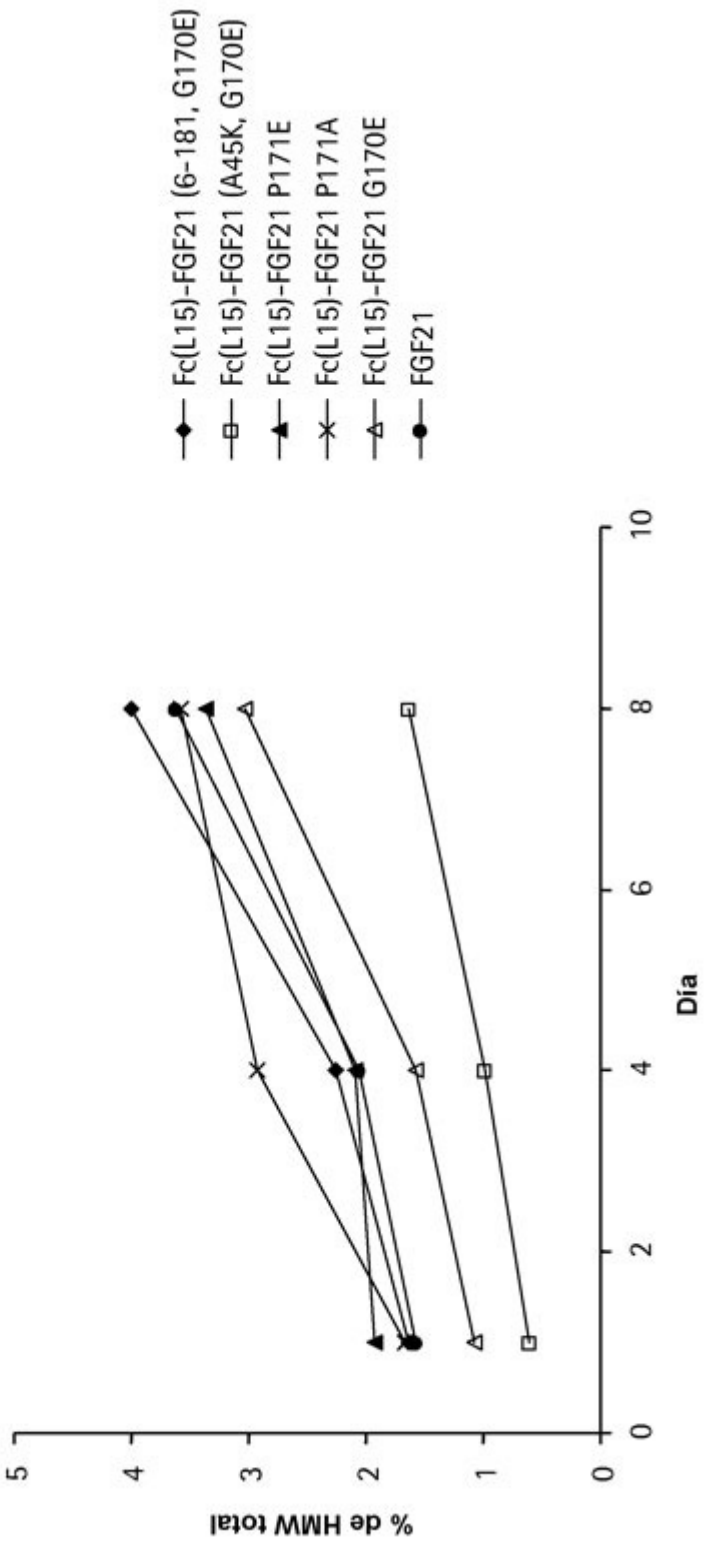

Fc(L15)-FGF21 (6-181, G170E)
Fc(L15)-FGF21 (A45K, G170E)
Fc(L15)-FGF21 P171E
Fc(L15)-FGF21 P171A
Fc(L15)-FGF21 G170E
FGF21
% de HMW total
0
1
2
3
4
5
0
2
4
6
8
10
Dia

FIG. 28B

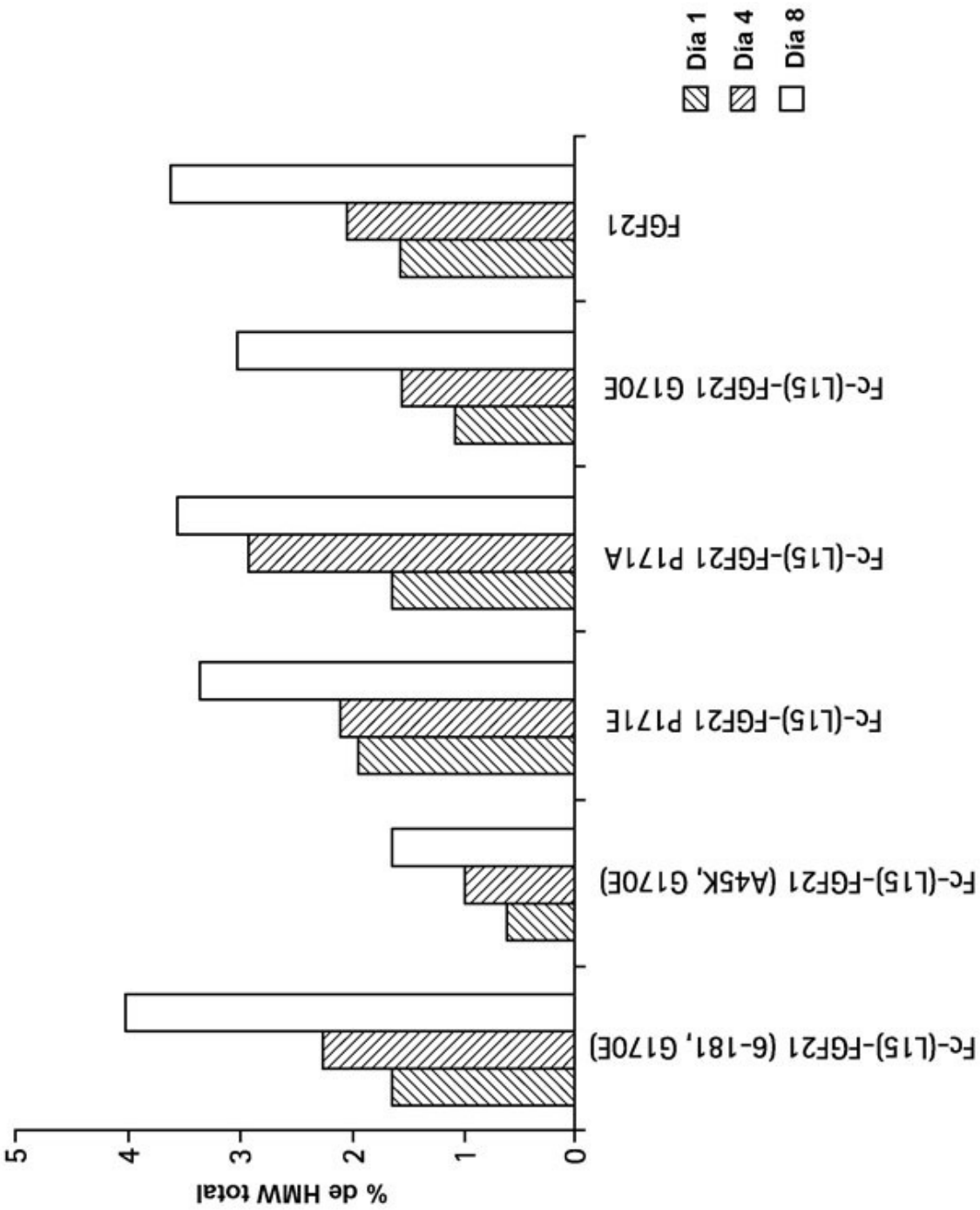

Día 1
Día 4
Día 8
% de HMW total
0
1
2
3
4
5
Fc-(L15)-FGF21 (6-181, G170E)
Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E)
Fc-(L15)-FGF21 P171E
Fc-(L15)-FGF21 P171A
Fc-(L15)-FGF21 G170E
FGF21

FIG. 29

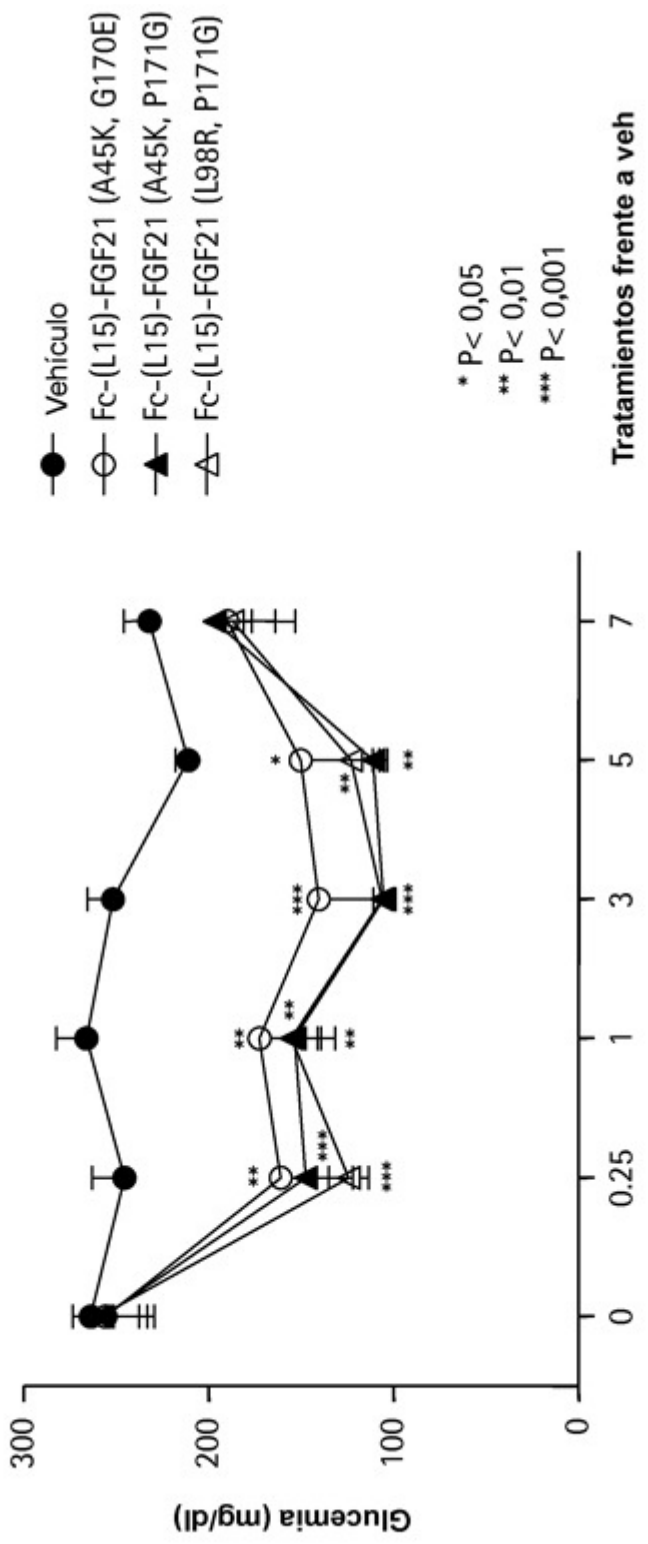

Vehículo
Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E)
Fc-(L15)-FGF21 (A45K, P171G)
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
* P< 0,05
** P< 0,01
*** P< 0,001
Tratamientos frente a veh
Glucemia (mg/dl)
300
200
100
0
0
0.25
1
3
5
7
Tiempo (d)

FIG. 30

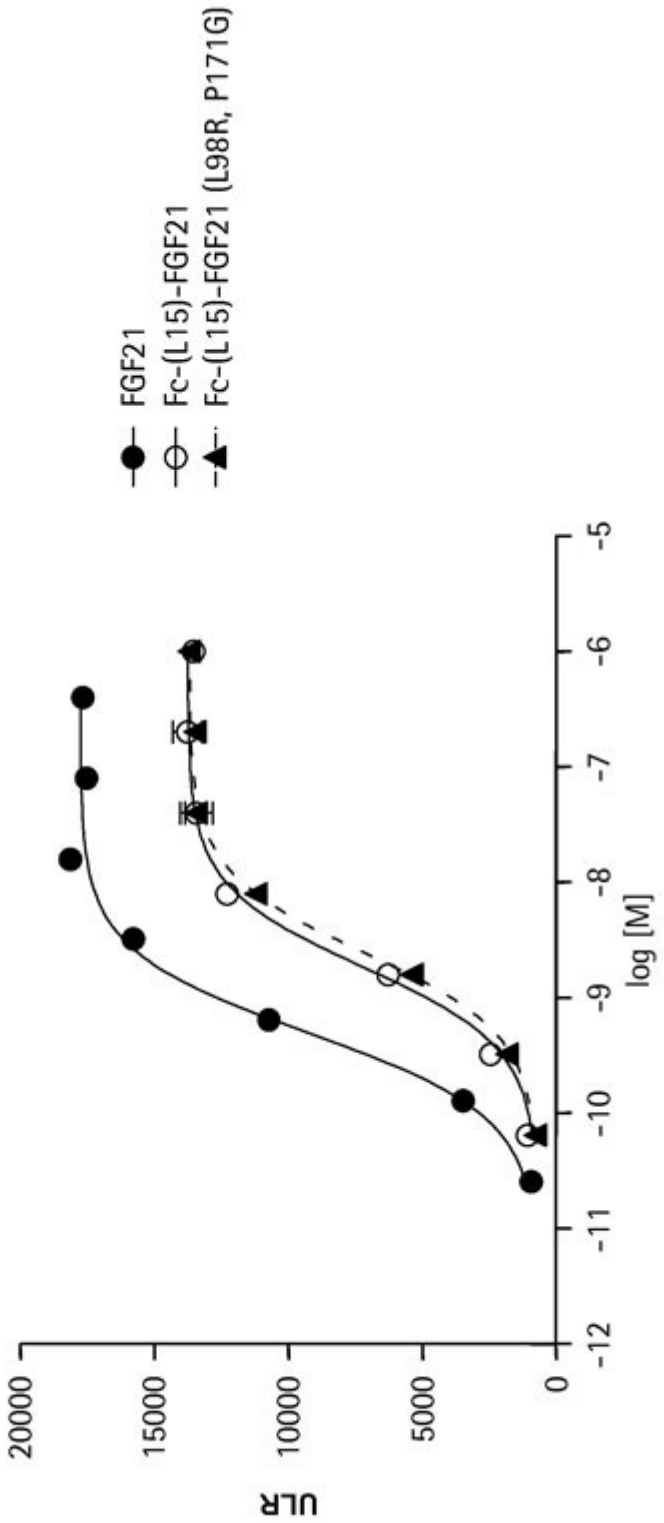

FGF21
Fc-(L15)-FGF21
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
ULR
20000
15000
10000
5000
0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
-5
log [M]

FIG. 31A

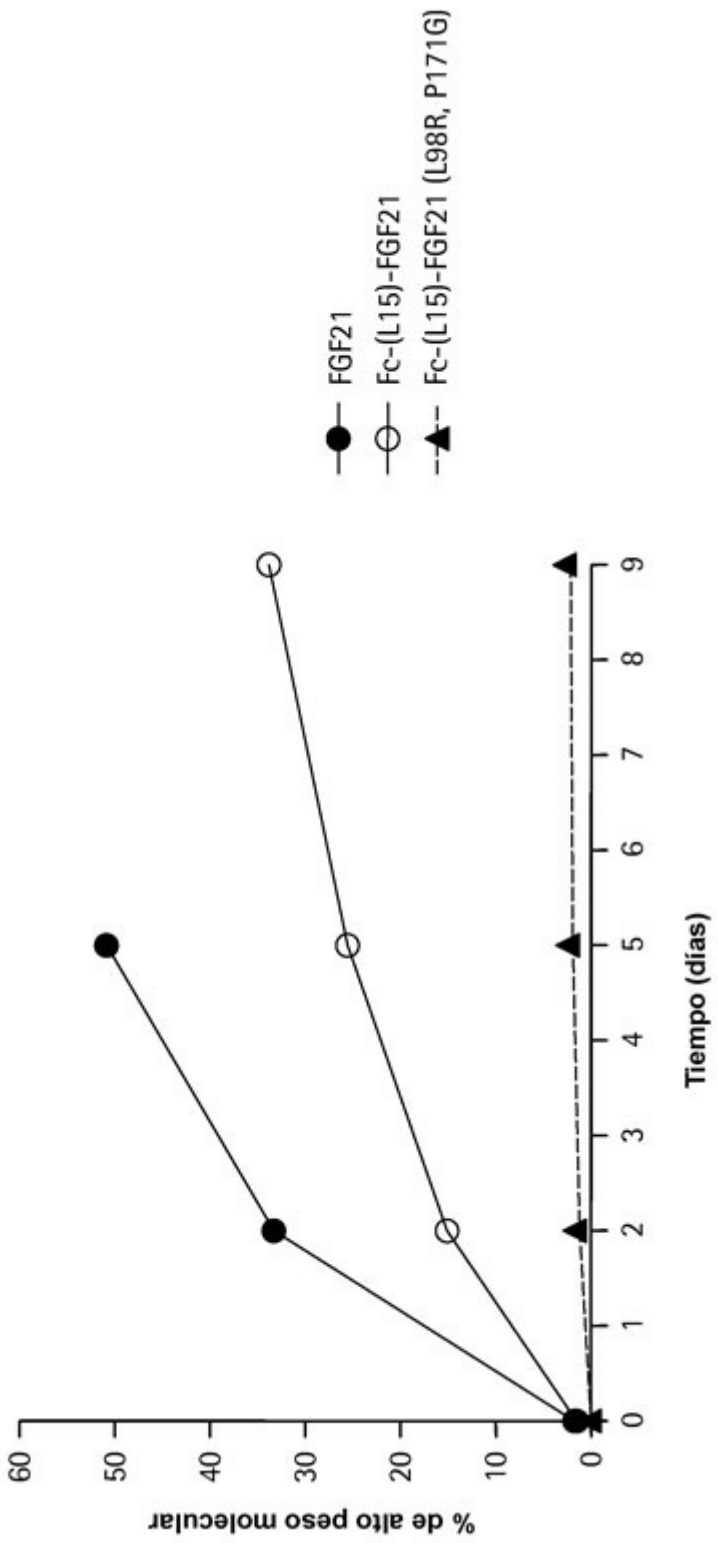

FGF21
Fc-(L15)-FGF21
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
% de alto peso molecular
0
10
20
30
40
50
60
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
Tiempo (días)

FIG. 31B

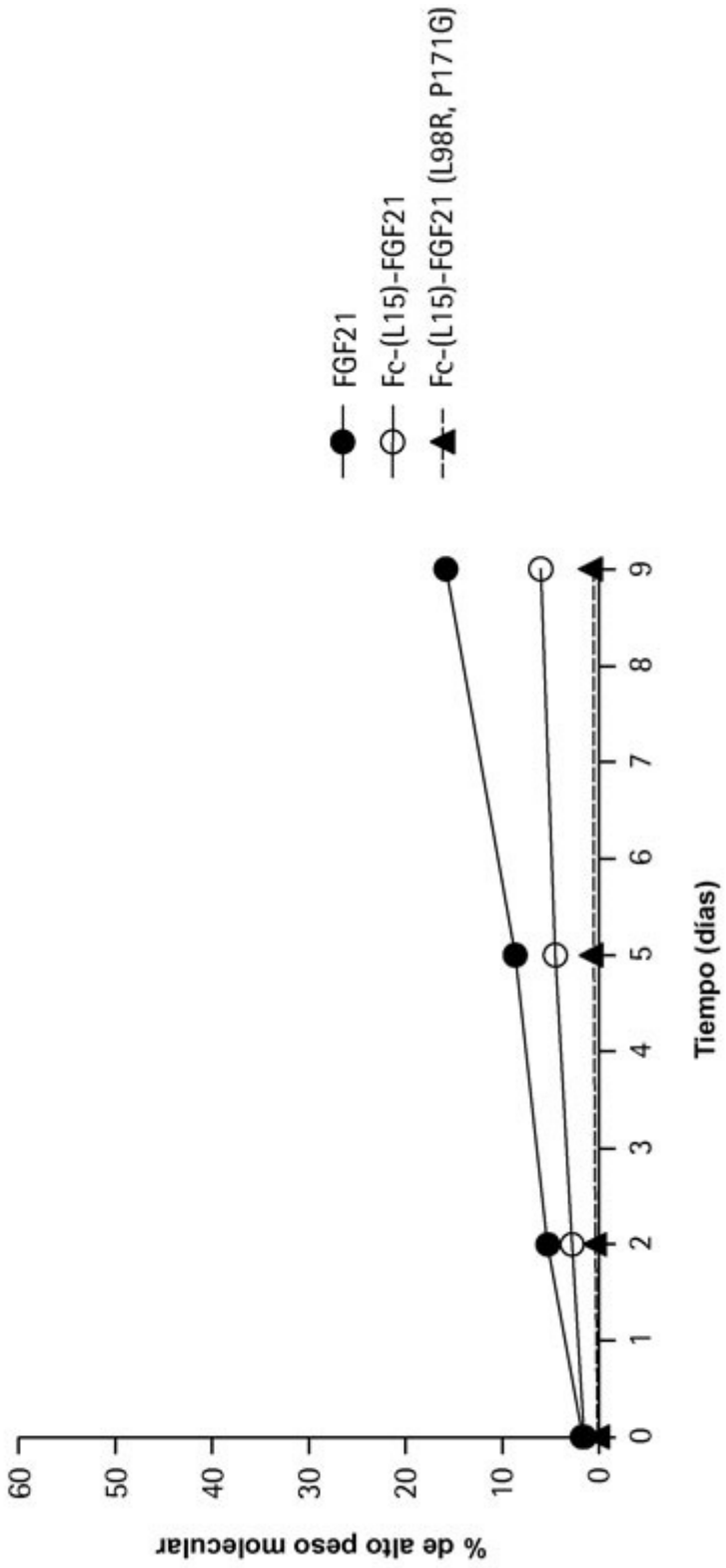

FGF21
Fc-(L15)-FGF21
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
% de alto peso molecular
0
10
20
30
40
50
60
Tiempo (días)
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9

FIG. 32

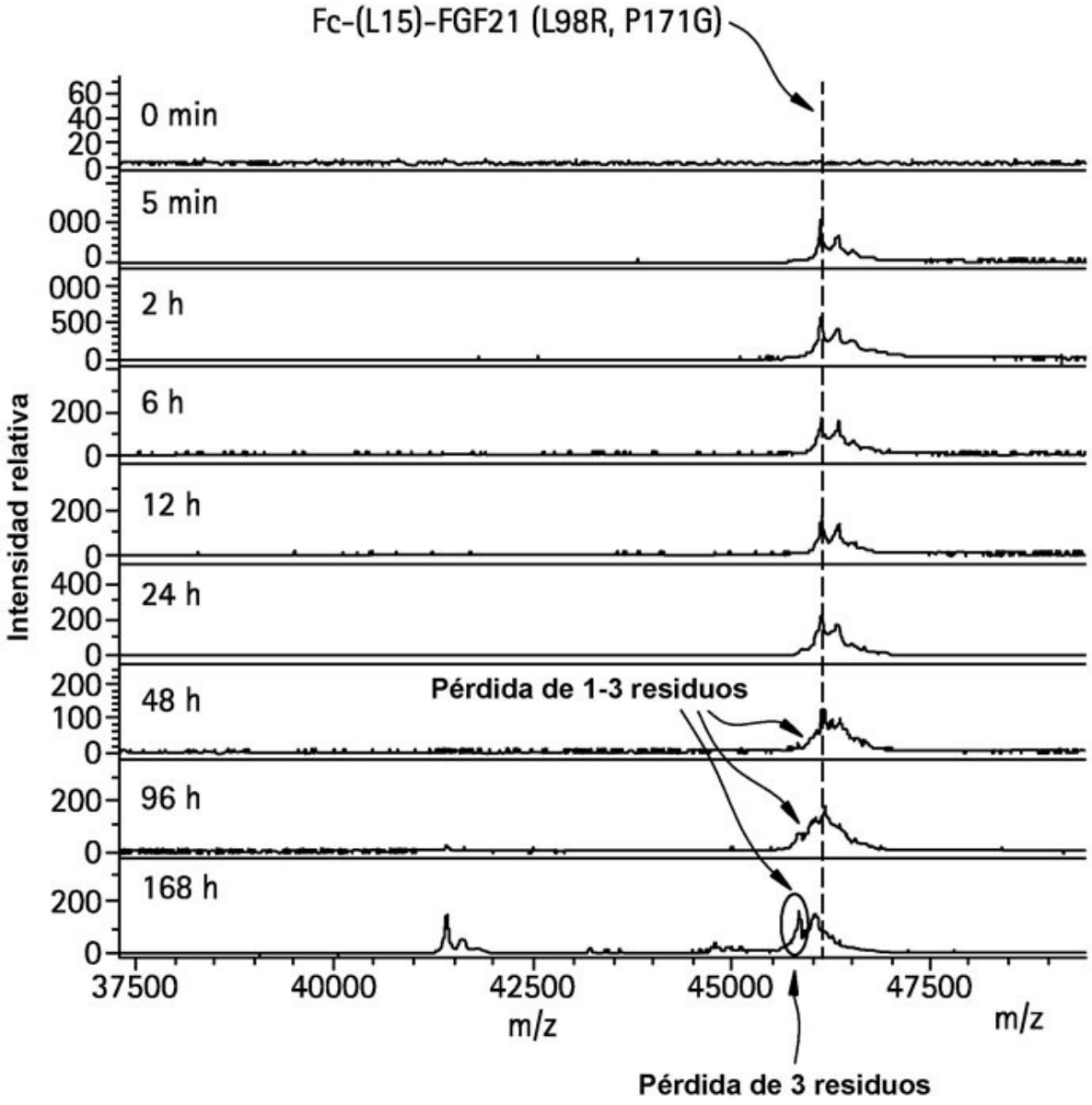

Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
0 min
5 min
2 h
6 h
12 h
24 h
48 h
96 h
168 h
Intensidad relativa
Pérdida de 1-3 residuos
Pérdida de 3 residuos
37500
40000
42500
45000
47500
m/z
m/z

FIG. 33

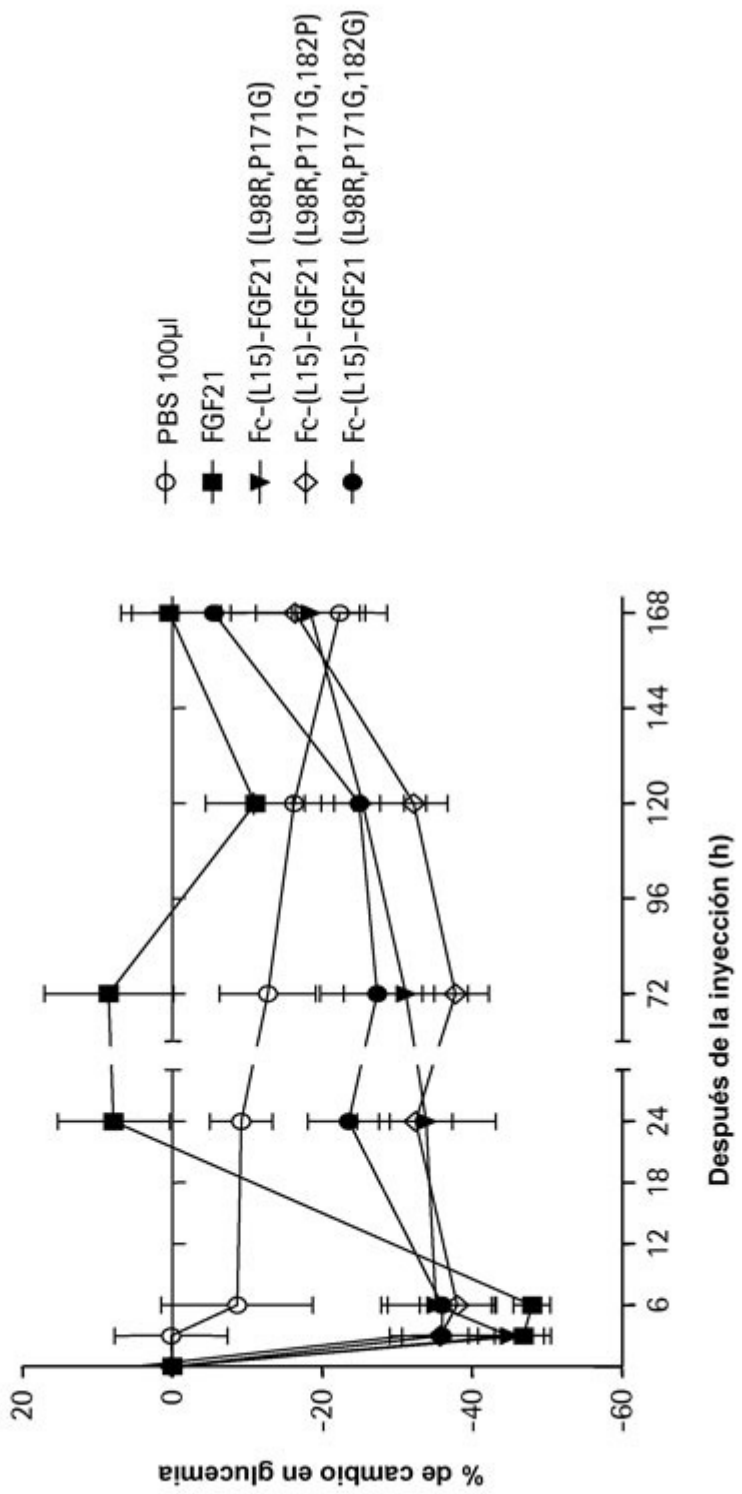

PBS 100µl
FGF21
Fc-(L15)-FGF21 (L98R,P171G)
Fc-(L15)-FGF21 (L98R,P171G,182P)
Fc-(L15)-FGF21 (L98R,P171G,182G)
% de cambio en glucemia
20
0
-20
-40
-60
6
12
18
24
72
96
120
144
168
Después de la inyección (h)

FIG. 34

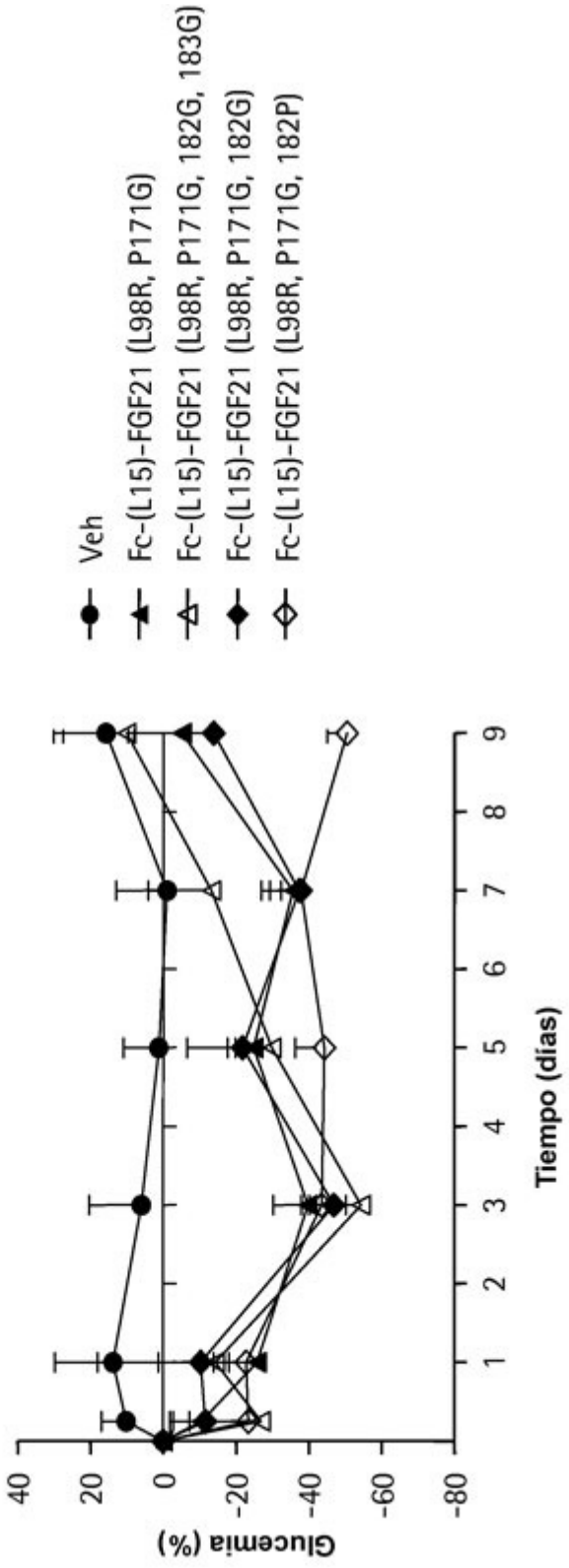

Veh
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182G, 183G)
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182G)
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182P)
Glucemia (%)
40
20
0
-20
-40
-60
-80
1
2
3
4
5
6
7
8
9
Tiempo (días)

FIG. 35

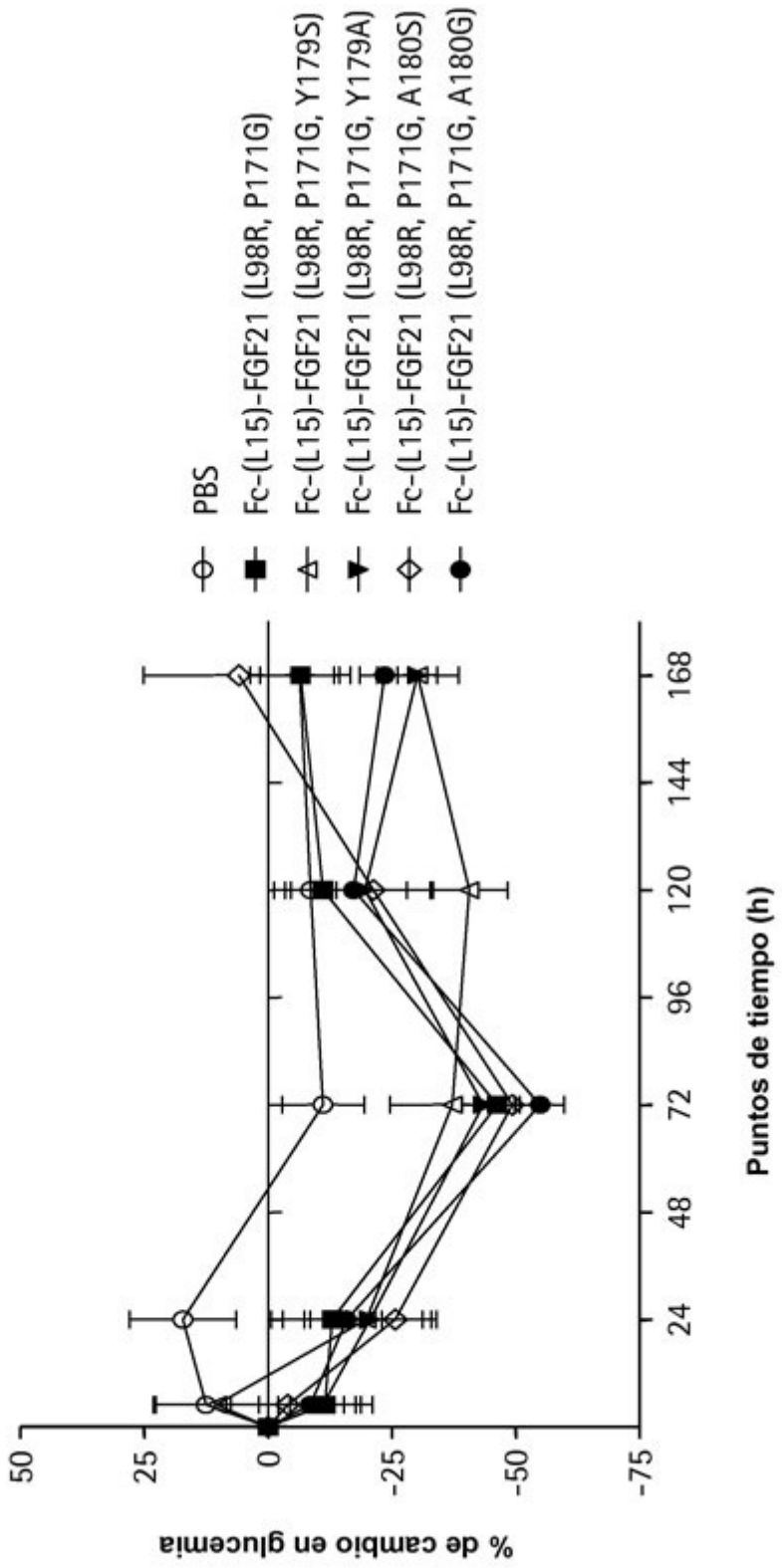

PBS
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, Y179S)
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, Y179A)
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180S)
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180G)
% de cambio en glucemia
50
25
0
-25
-50
-75
24
48
72
96
120
144
168
Puntos de tiempo (h)

FIG. 36

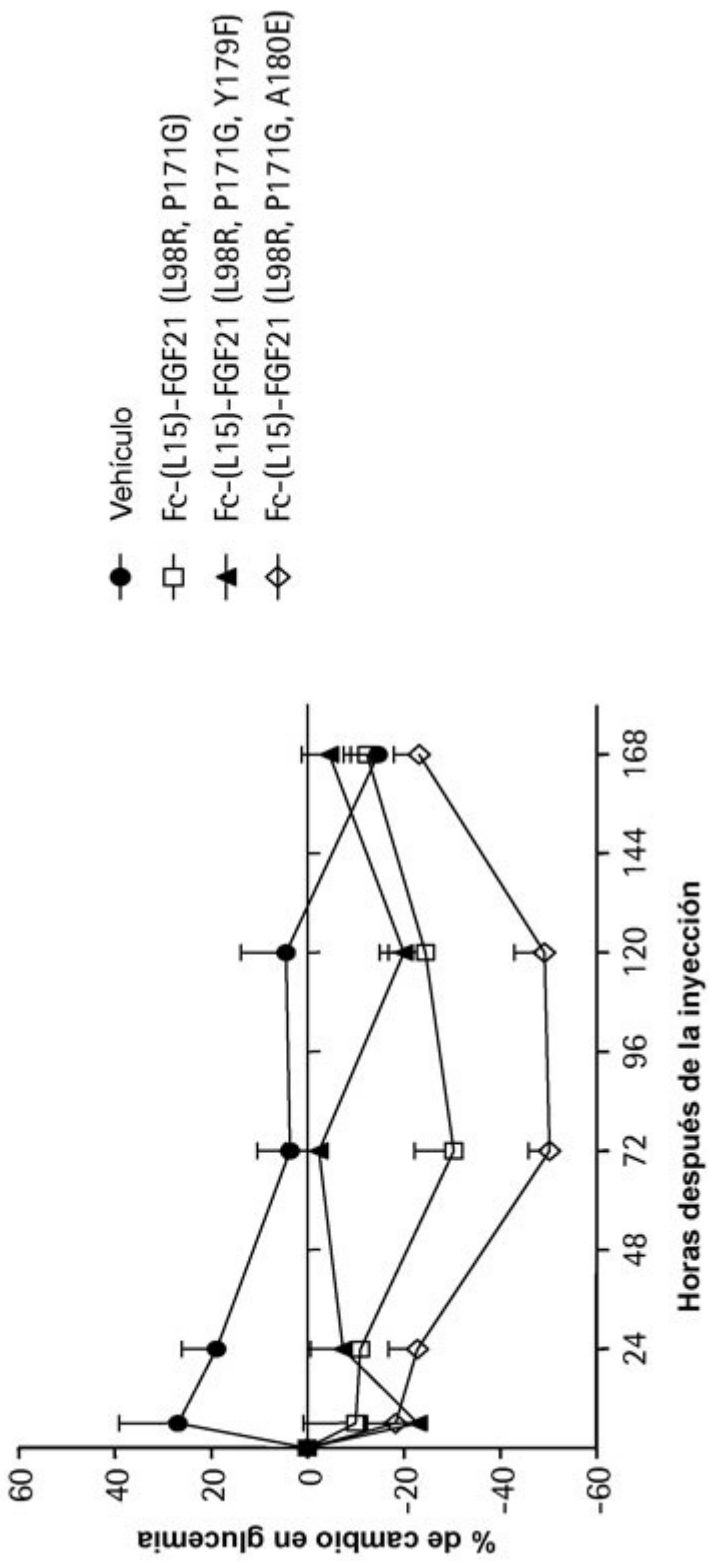

Vehículo
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, Y179F)
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E)
% de cambio en glucemia
60
40
20
0
-20
-40
-60
24
48
72
96
120
144
168
Horas después de la inyección

FIG. 37

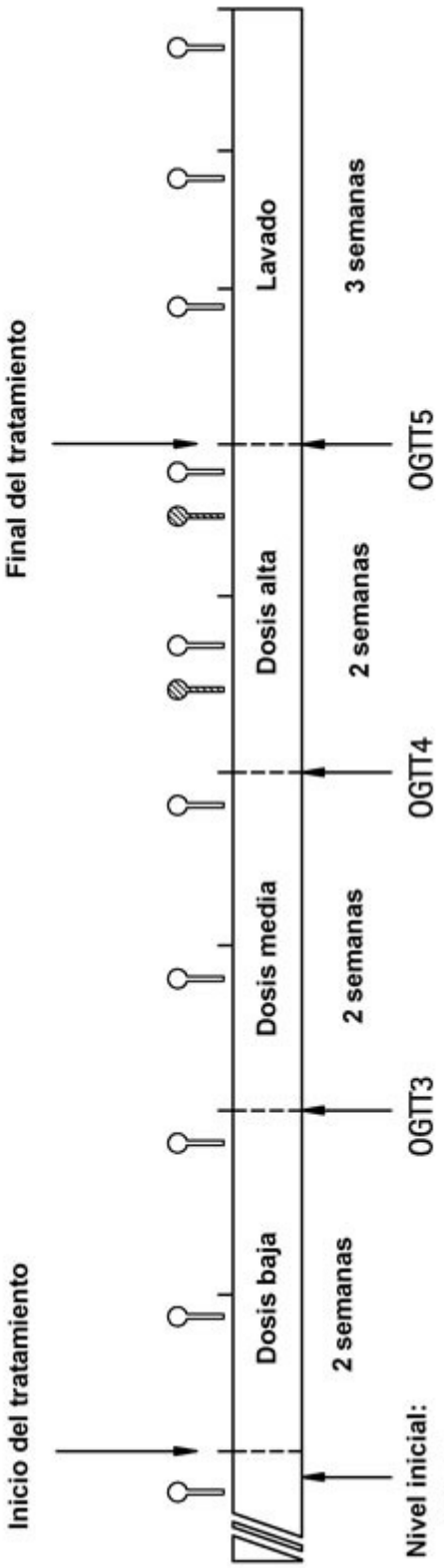

Inicio del tratamiento
Final del tratamiento
Dosis baja
Dosis media
Dosis alta
Lavado
2 semanas
2 semanas
2 semanas
3 semanas
Nivel inicial:
OGTT1
OGTT2
OGTT3
OGTT4
OGTT5

FIG. 38A

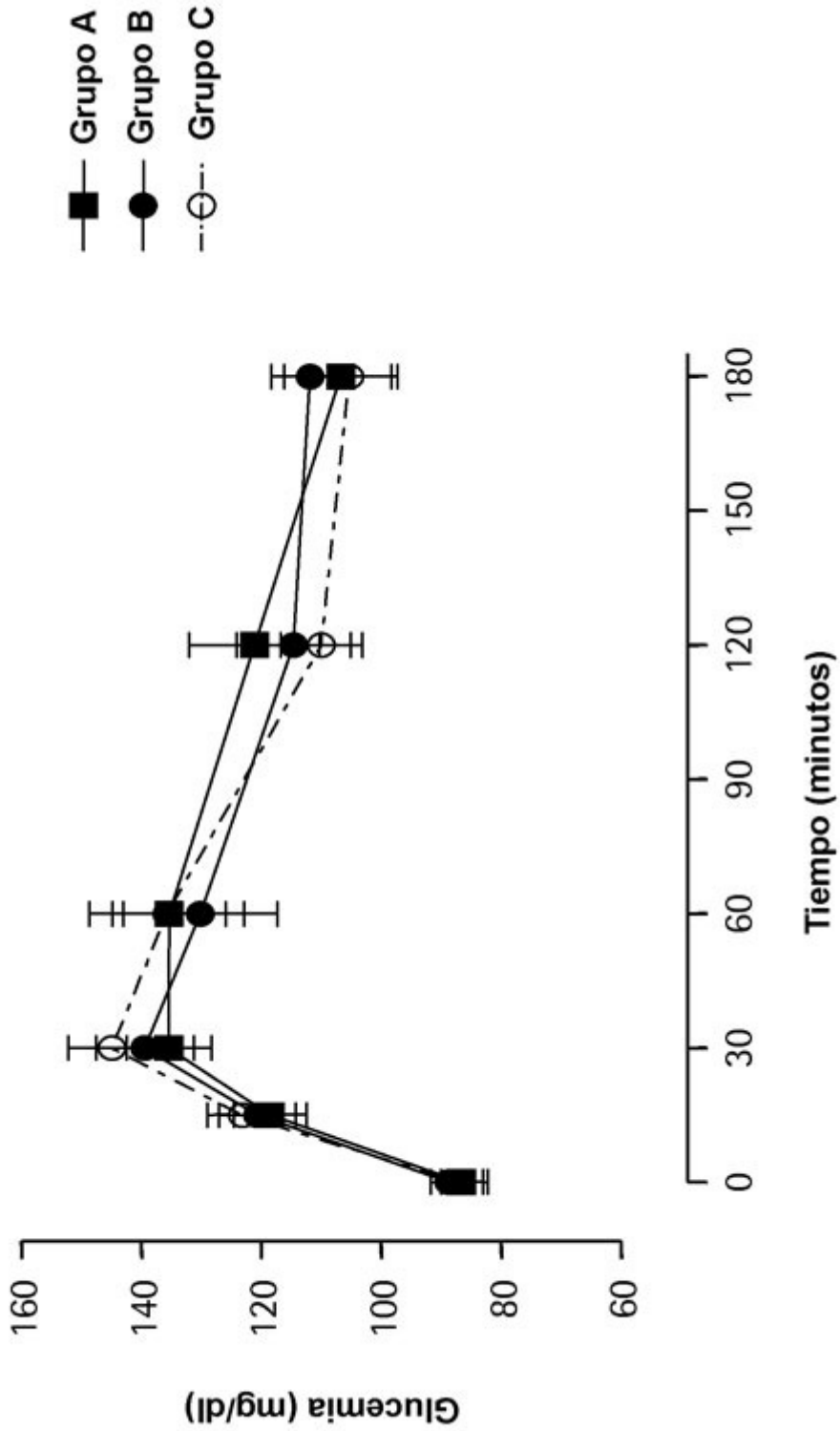

Grupo A
Grupo B
Grupo C
Glucemia (mg/dl)
160
140
120
100
80
60
Tiempo (minutos)
0
30
60
90
120
150
180

FIG. 38B

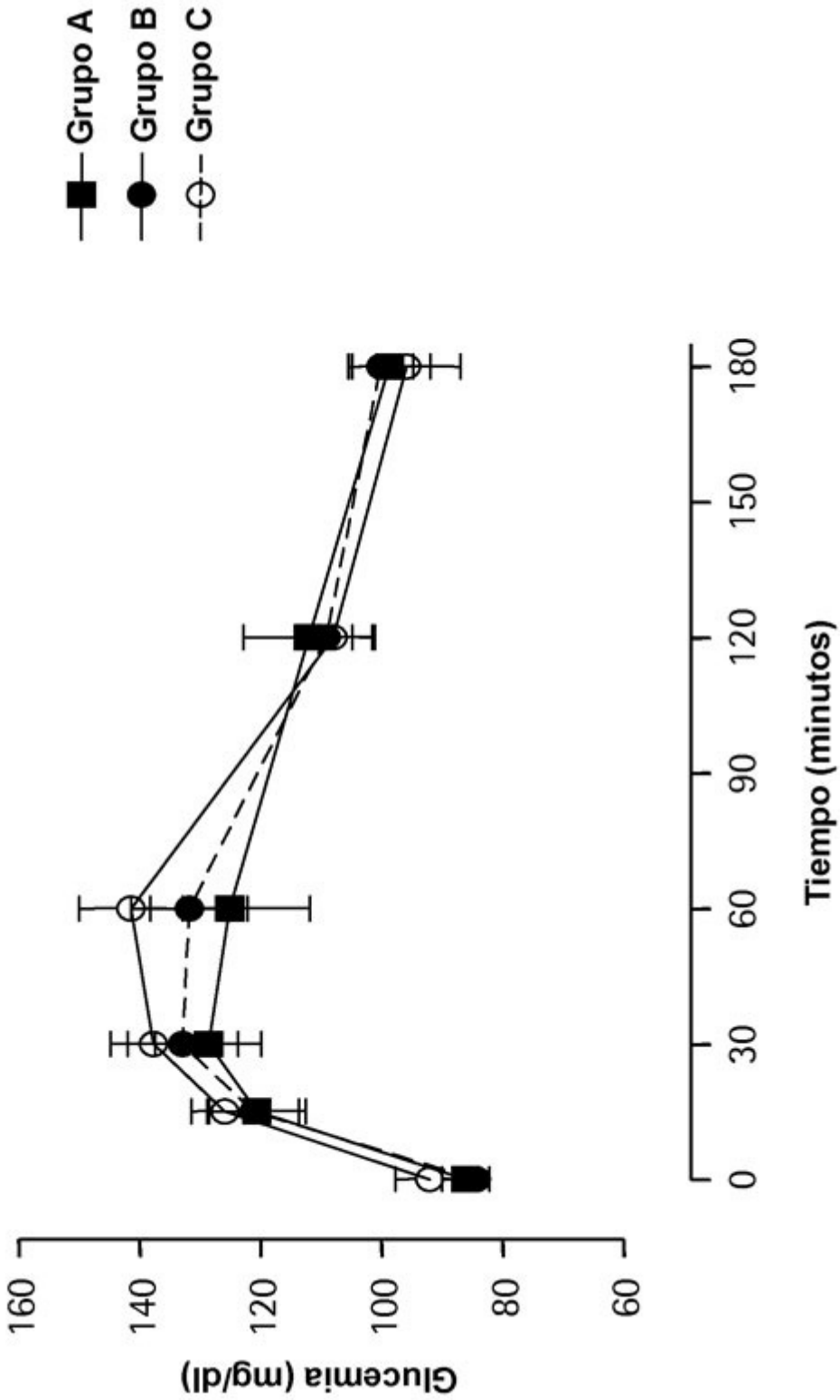

Grupo A
Grupo B
Grupo C
Glucemia (mg/dl)
160
140
120
100
80
60
Tiempo (minutos)
0
30
60
90
120
150
180

FIG. 38C

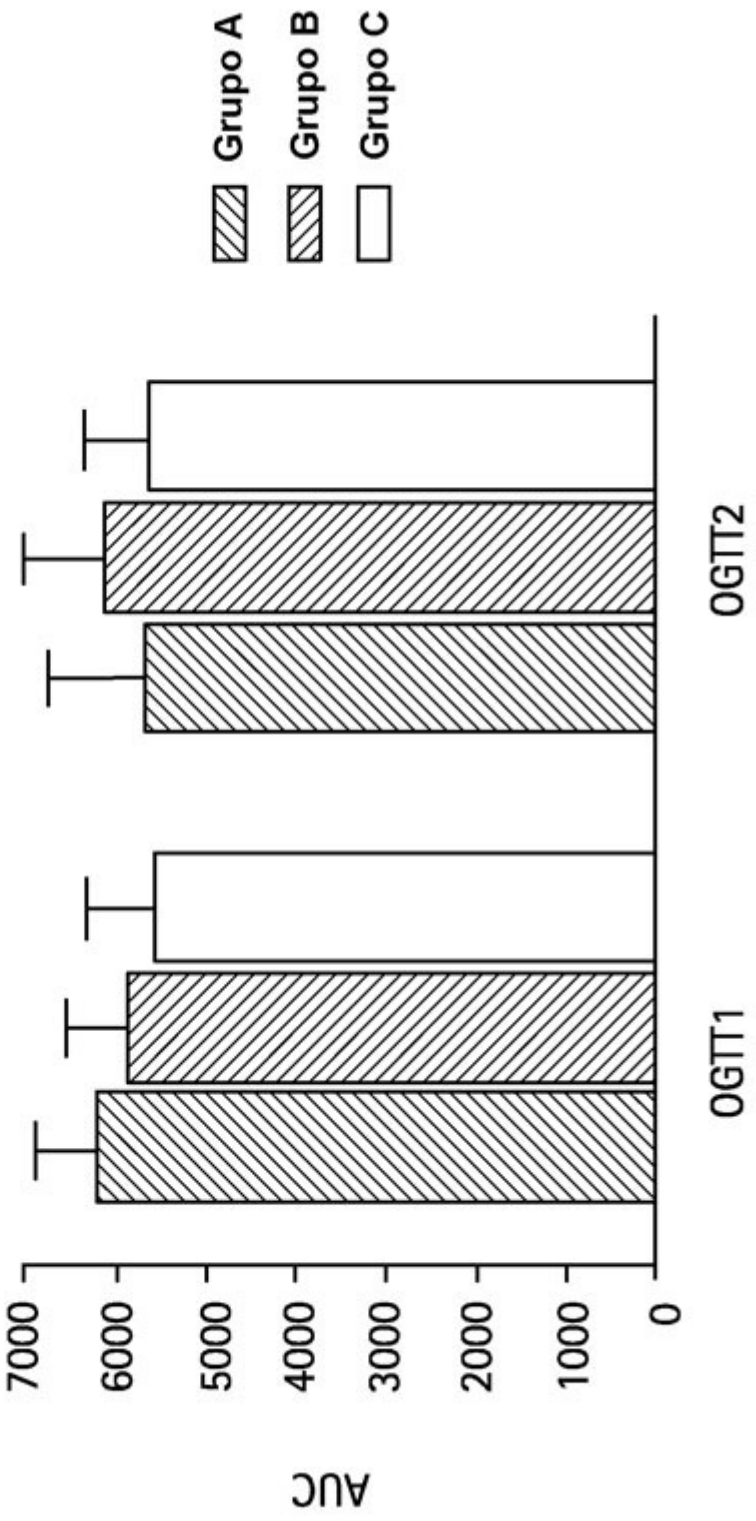

Grupo A
Grupo B
Grupo C
AUC
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
OGTT1
OGTT2

FIG. 38D

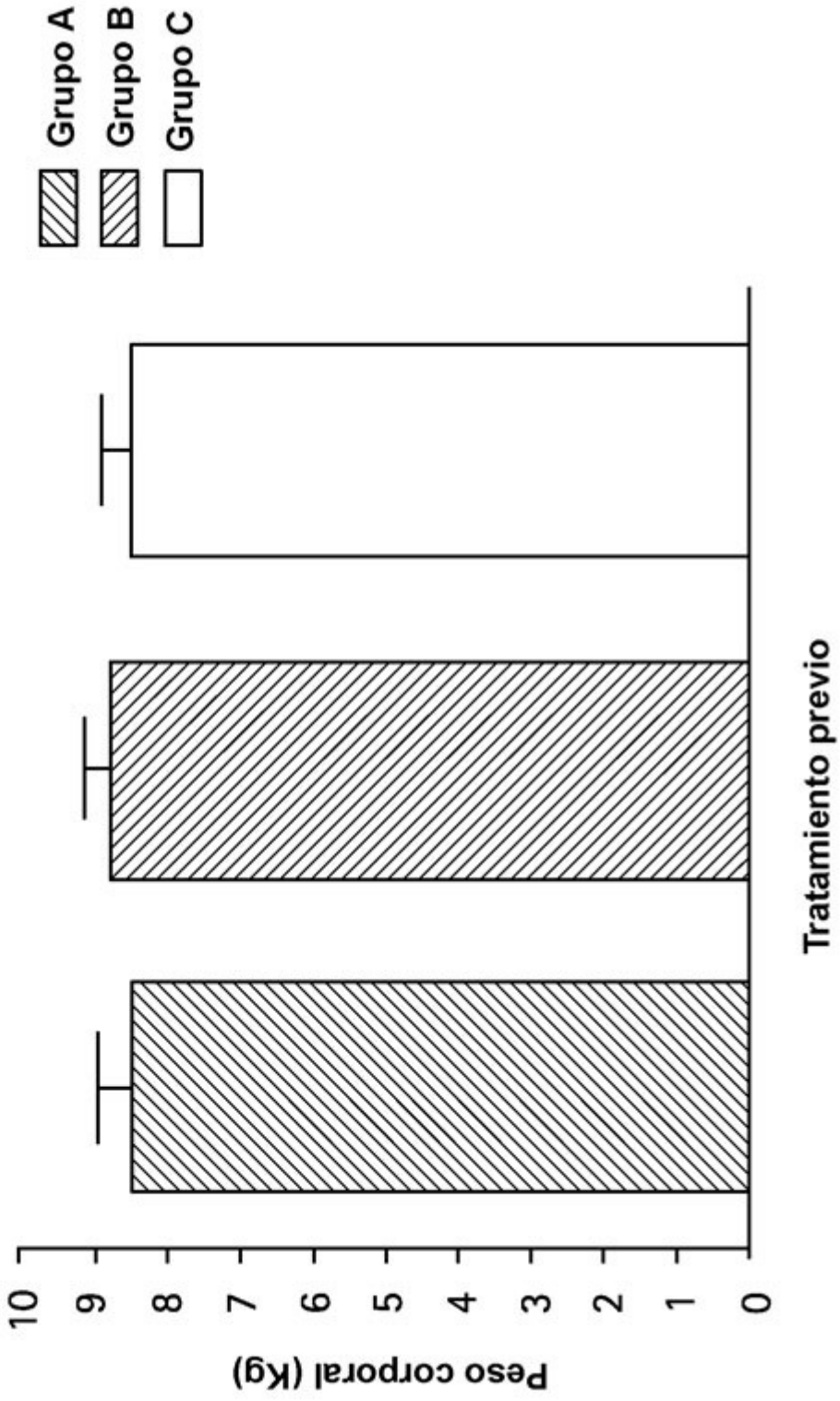

Grupo A
Grupo B
Grupo C
Peso corporal (kg)
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
Tratamiento previo

FIG. 39

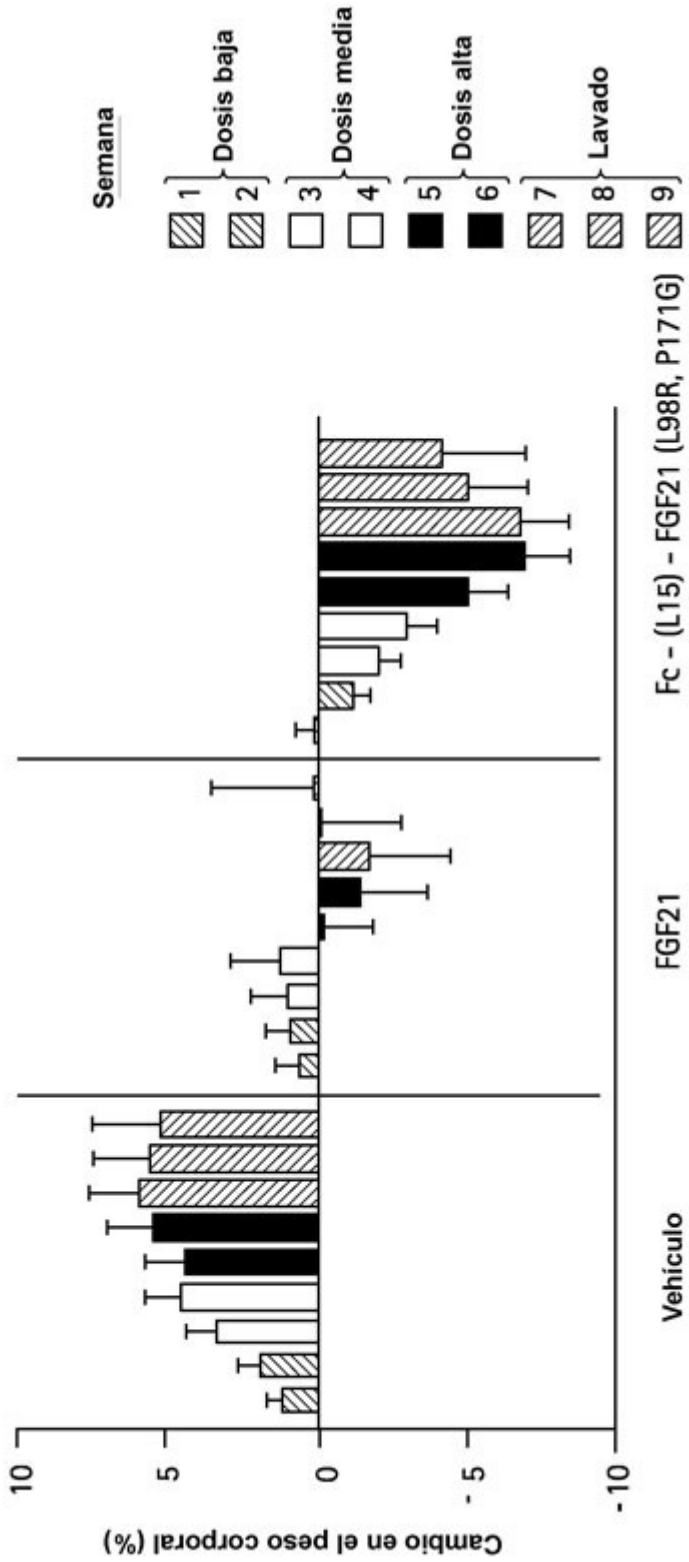

Semana
1
2
Dosis baja
3
4
Dosis media
5
6
Dosis alta
7
8
Lavado
9
Cambio en el peso corporal (%)
10
5
0
- 5
- 10
Vehículo
FGF21
Fc - (L15) - FGF21 (L98R, P171G)

FIG. 40

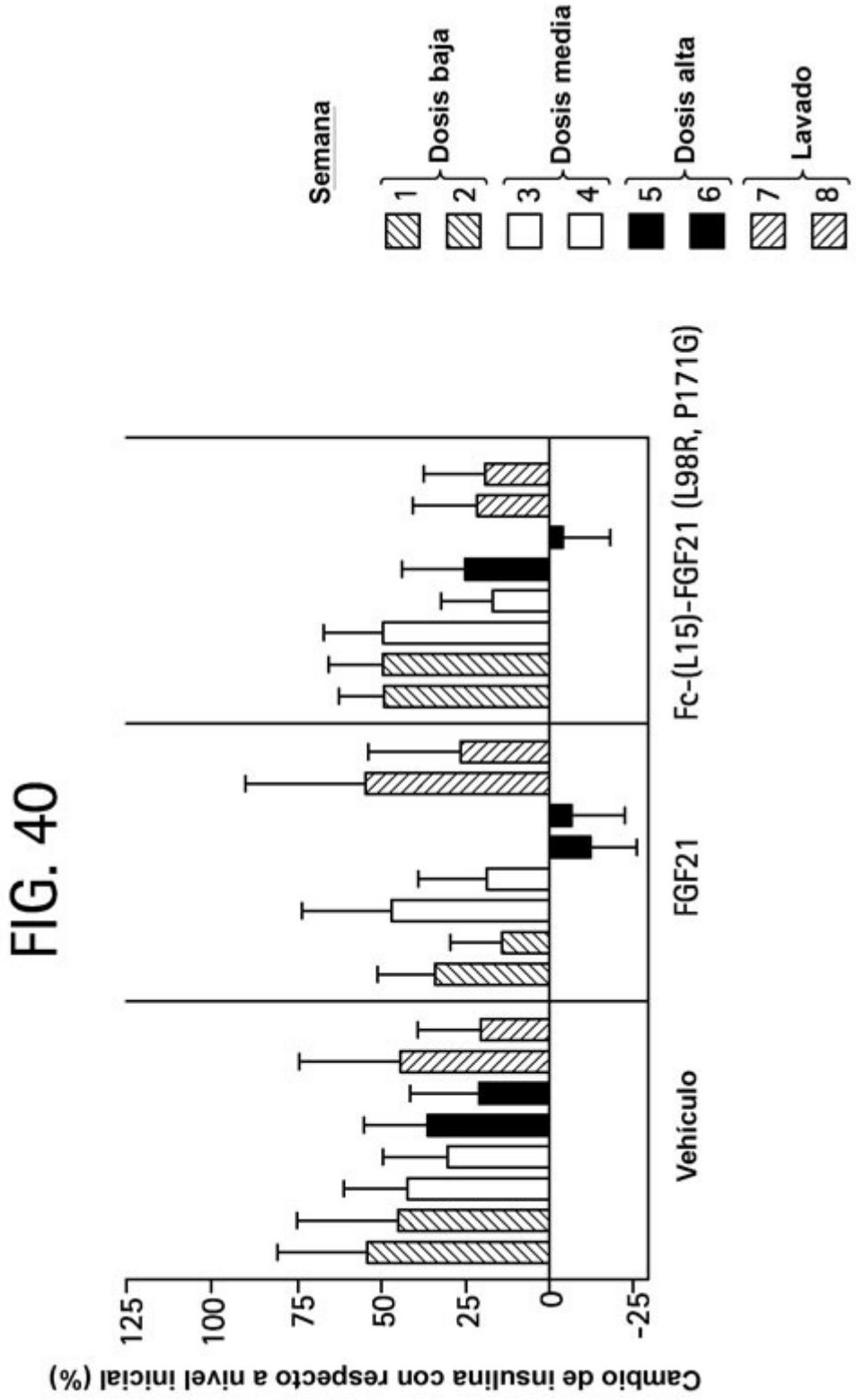

Cambio de insulina con respecto a nivel inicial (%)
125
100
75
50
25
0
-25
Vehículo
FGF21
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
Semana
1
2
Dosis baja
3
4
Dosis media
5
6
Dosis alta
7
8
Lavado

FIG. 41

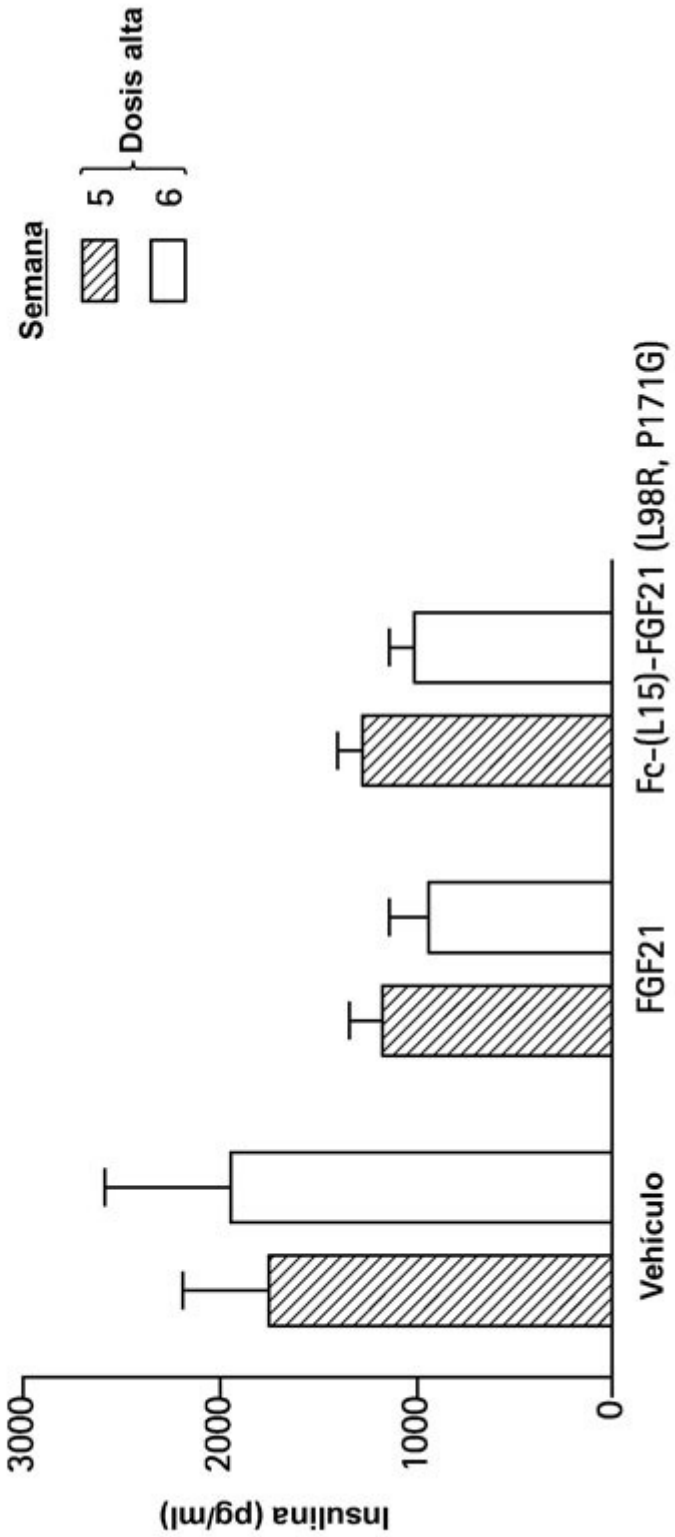

Semana
5
6
Dosis alta
Insulina (pg/ml)
3000
2000
1000
0
Vehículo
FGF21
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)

FIG. 42

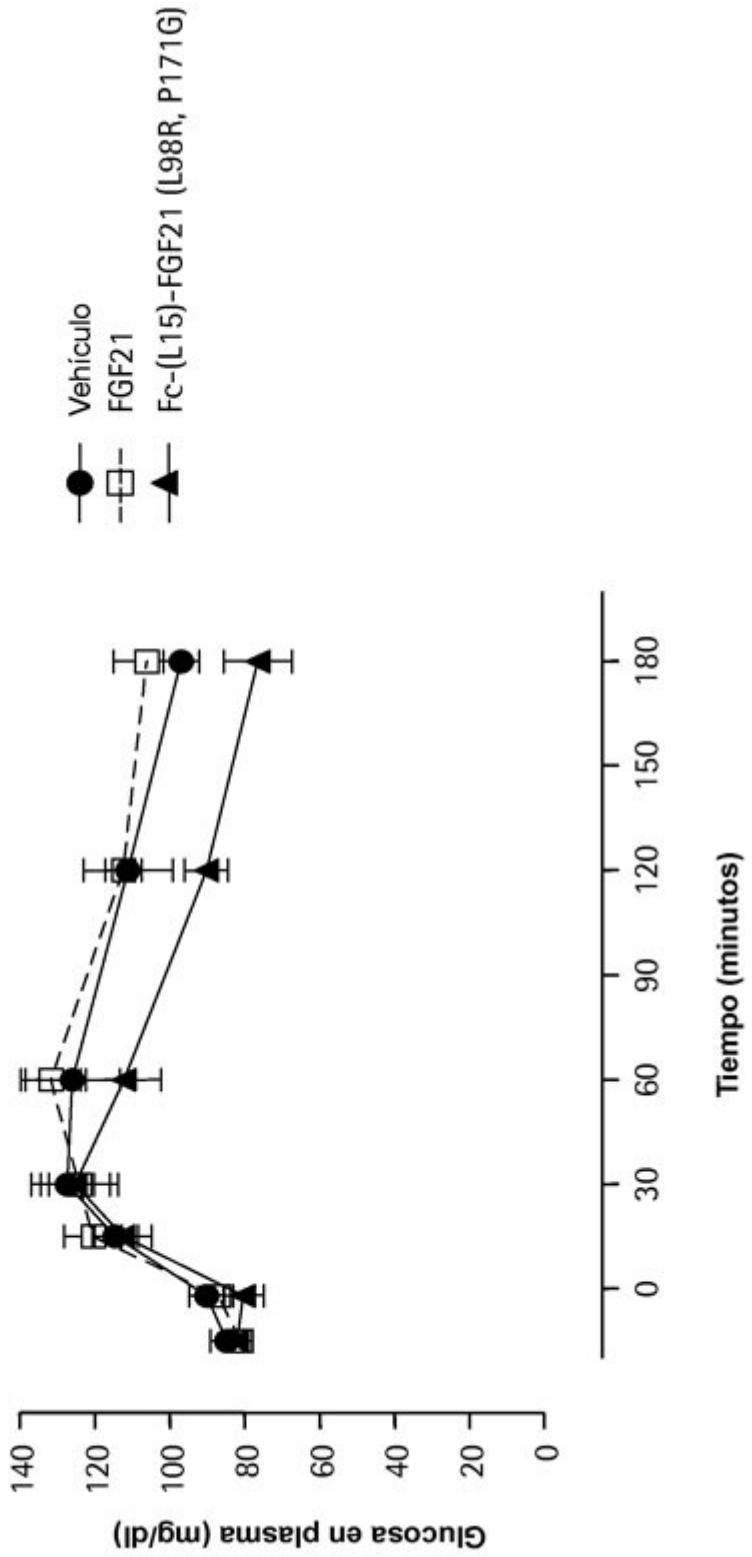

Vehículo
FGF21
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
Glucosa en plasma (mg/dl)
0
20
40
60
80
100
120
140
0
30
60
90
120
150
180
Tiempo (minutos)

FIG. 43

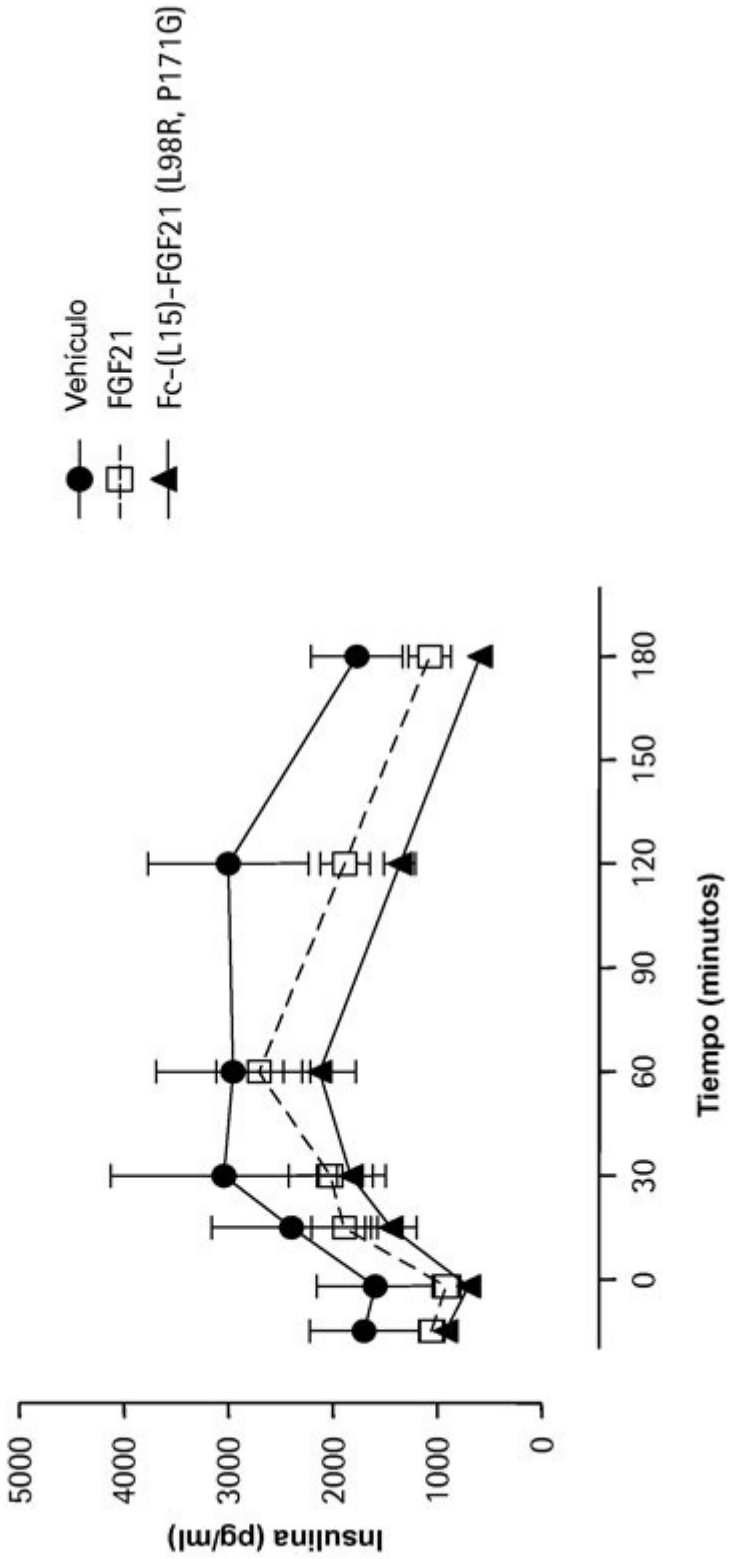

Vehículo
FGF21
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
Insulina (pg/ml)
0
1000
2000
3000
4000
5000
0
30
60
90
120
150
180
Tiempo (minutos)

FIG. 44

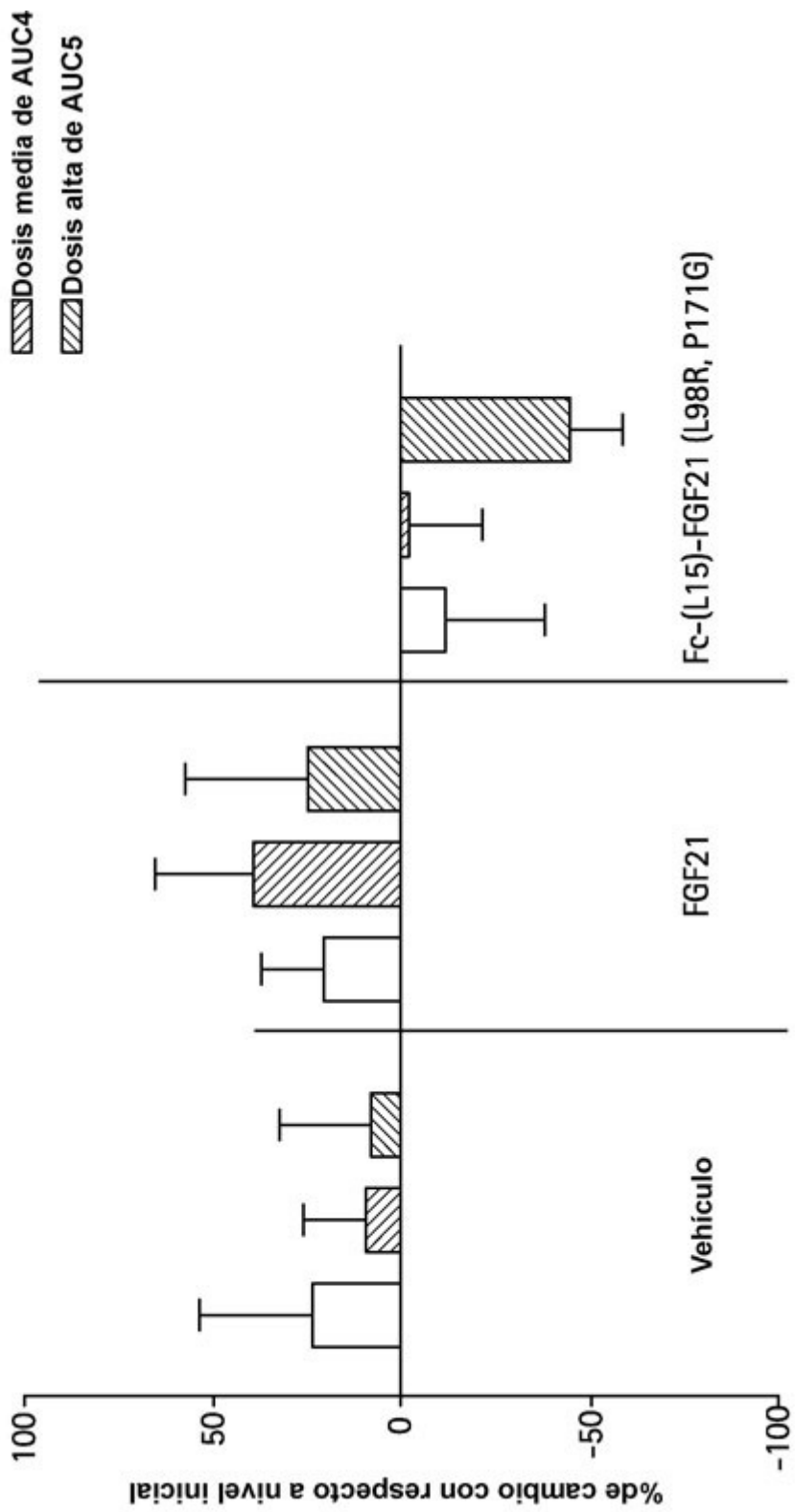

Dosis baja de AUC3
Dosis media de AUC4
Dosis alta de AUC5
%de cambio con respecto a nivel inicial
100
50
0
-50
-100
Vehículo
FGF21
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)

FIG. 45

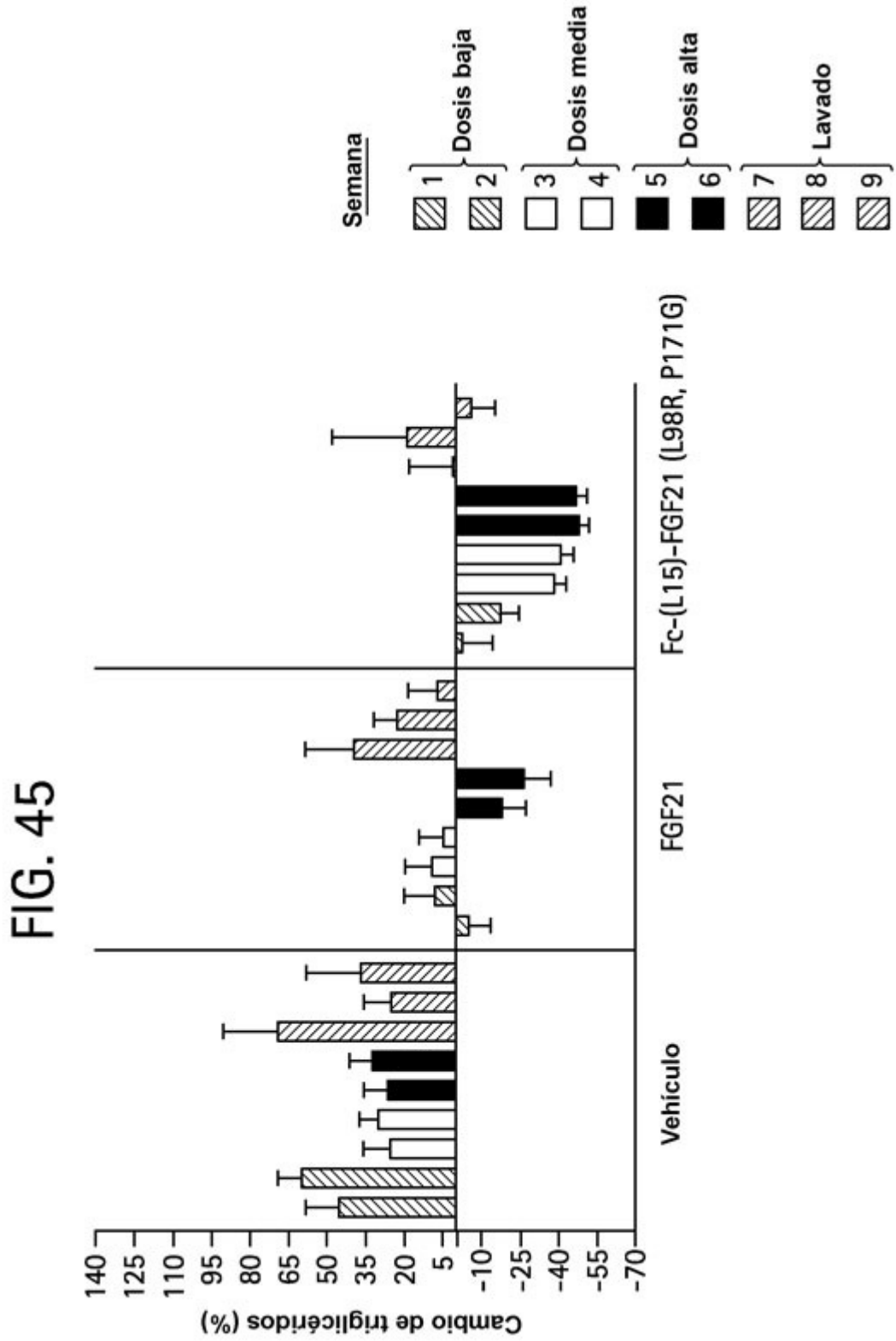

Semana
1
2
Dosis baja
3
4
Dosis media
5
6
Dosis alta
7
8
Lavado
9
Cambio de triglicéridos (%)
140
125
110
95
80
65
50
35
20
5
-10
-25
-40
-55
-70
Vehículo
FGF21
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)

FIG. 46

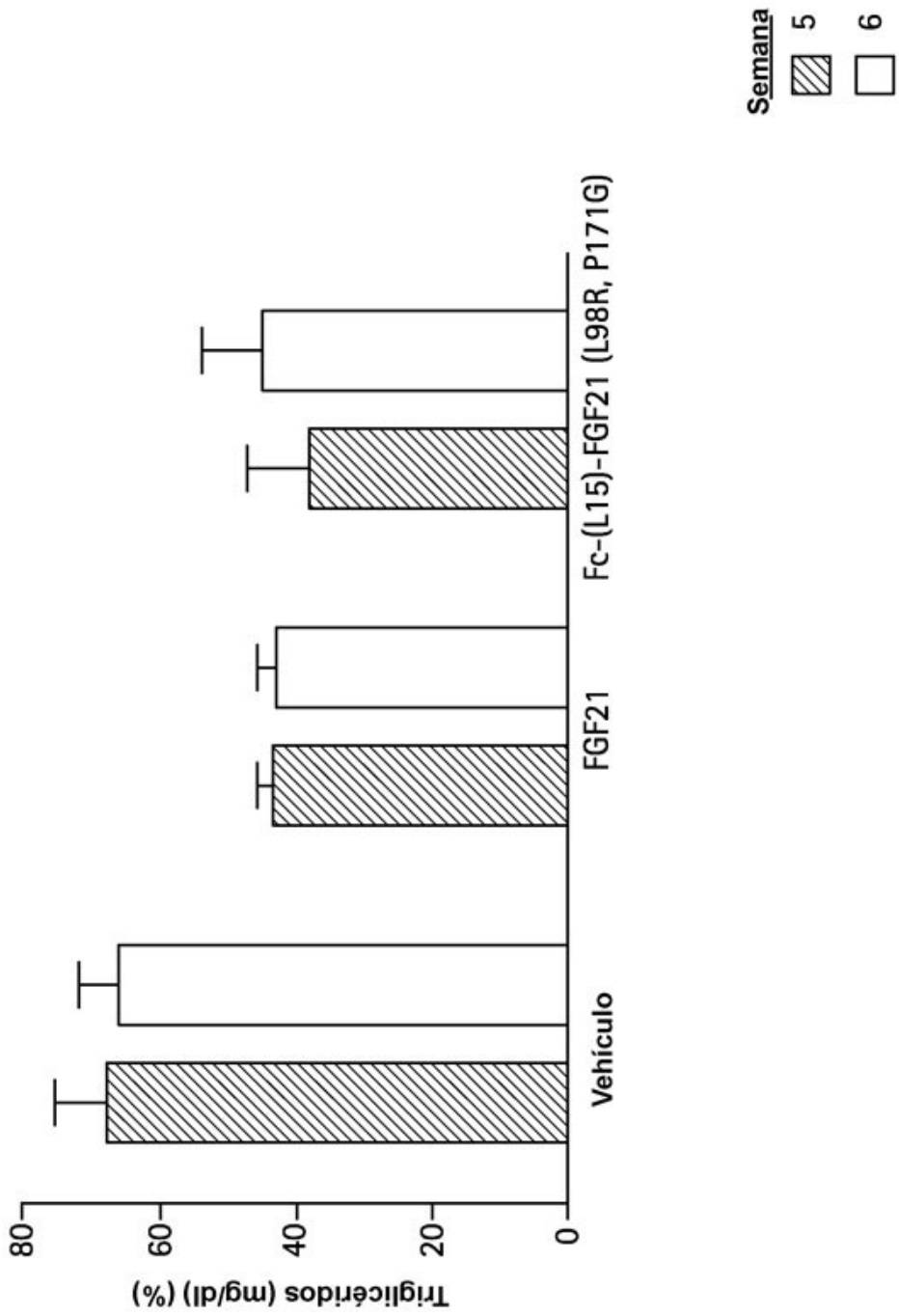

Triglicéridos (mg/dl) (%)
0
20
40
60
80
Vehículo
FGF21
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
Semana
5
6

FIG. 47

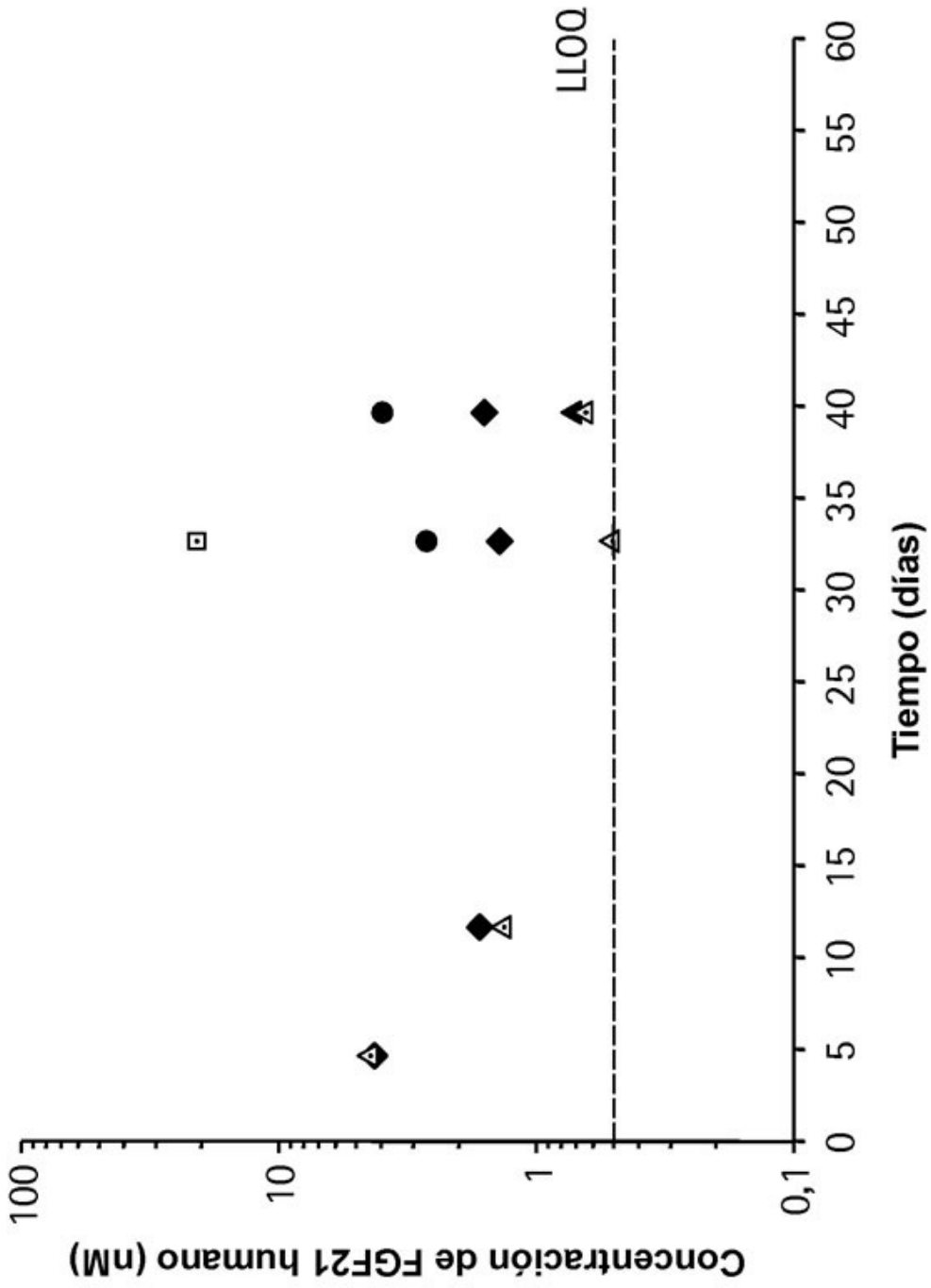

LLOQ
100
10
1
0,1
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
Concentración de FGF21 humano (nM)
Tiempo (días)

FIG. 48

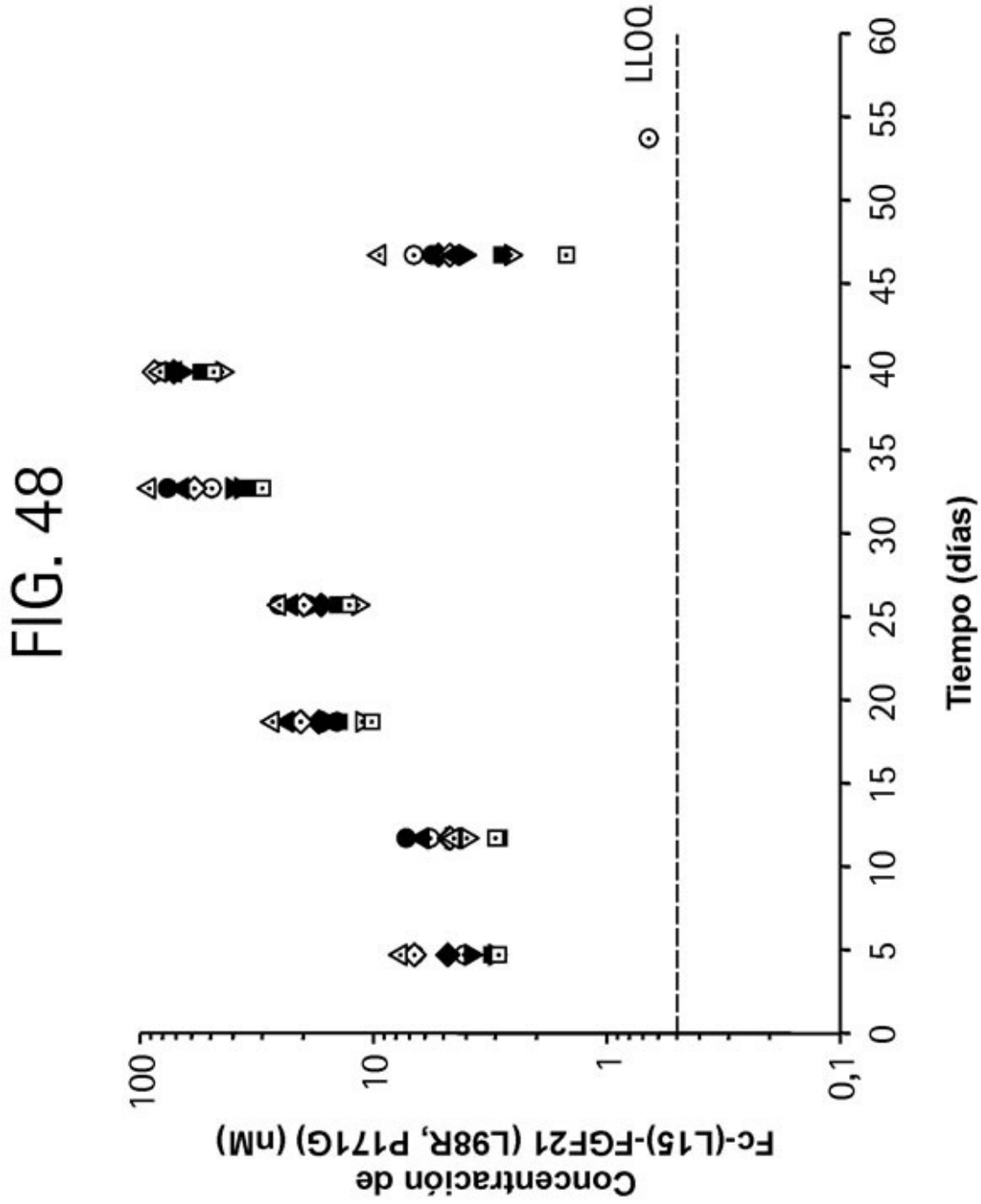

Concentración de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (nM)
100
10
1
0,1
LLOQ
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
Tiempo (días)

FIG. 49

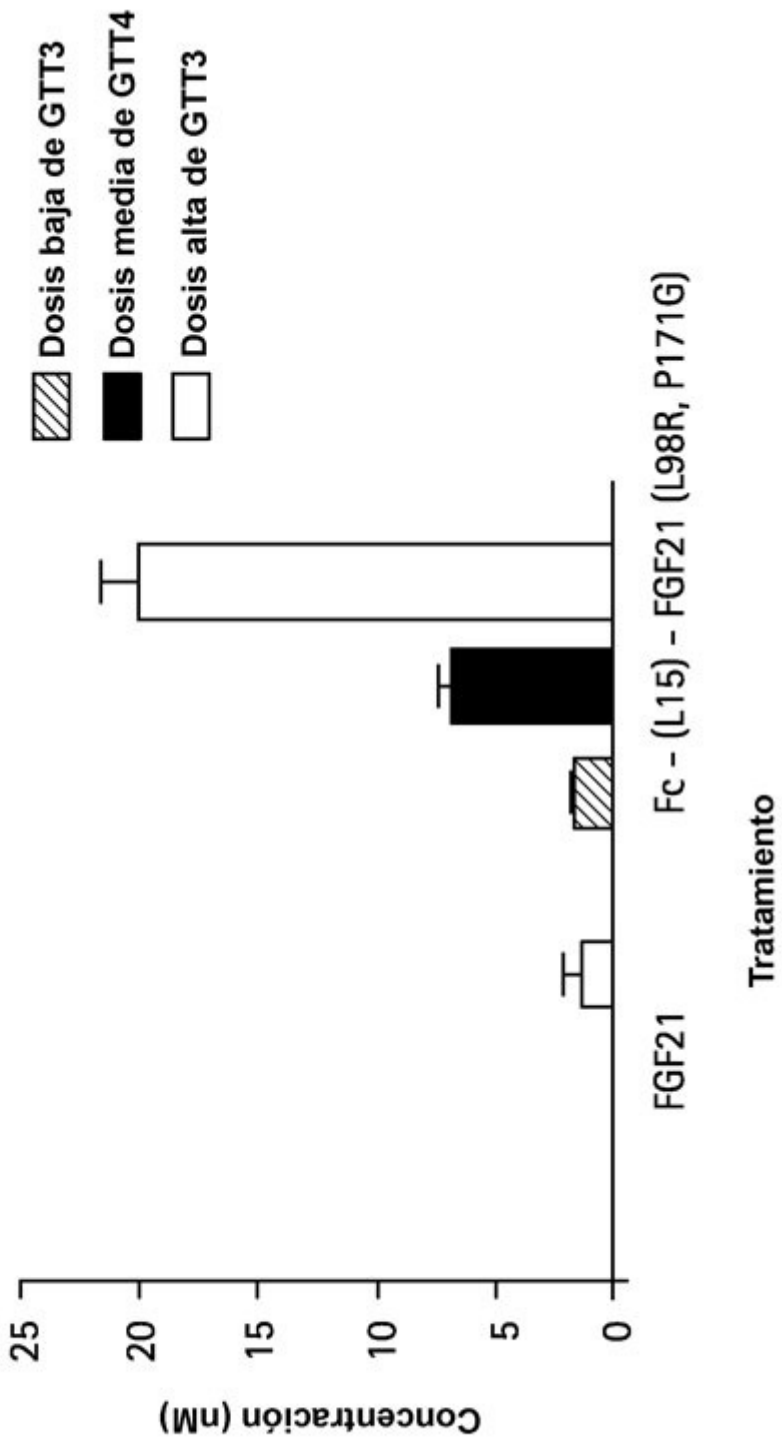
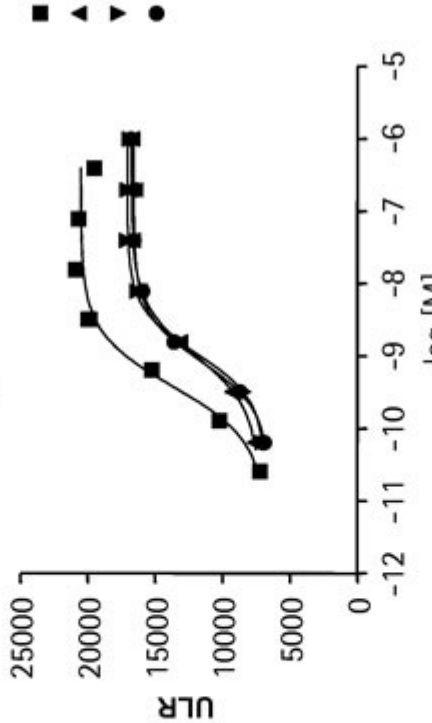

Dosis baja de GTT3
Dosis media de GTT4
Dosis alta de GTT3
25
20
15
10
5
0
Concentración (nM)
FGF21
Fc – (L15) – FGF21 (L98R, P171G)
Tratamiento

FIG. 50

Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A190E)

MDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*GGGSGGGGSGG*
*GGSH*PIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQR
PDGALYGSLHFDPEACSFRE**R**LLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQP
PDVGSSDPLSMVG**G**SQGRSPSY**E**S

FIG. 51



	FGF21	Fc-(L15)-FGF21	Fc-L15-FGF21(L98R/P171G/A180E)	Fc-G4S-FGF21(L98R/P171G/A180E)
CE50	3,831e-010	1,034e-009	1,095e-009	8,515e-010

FIG. 52

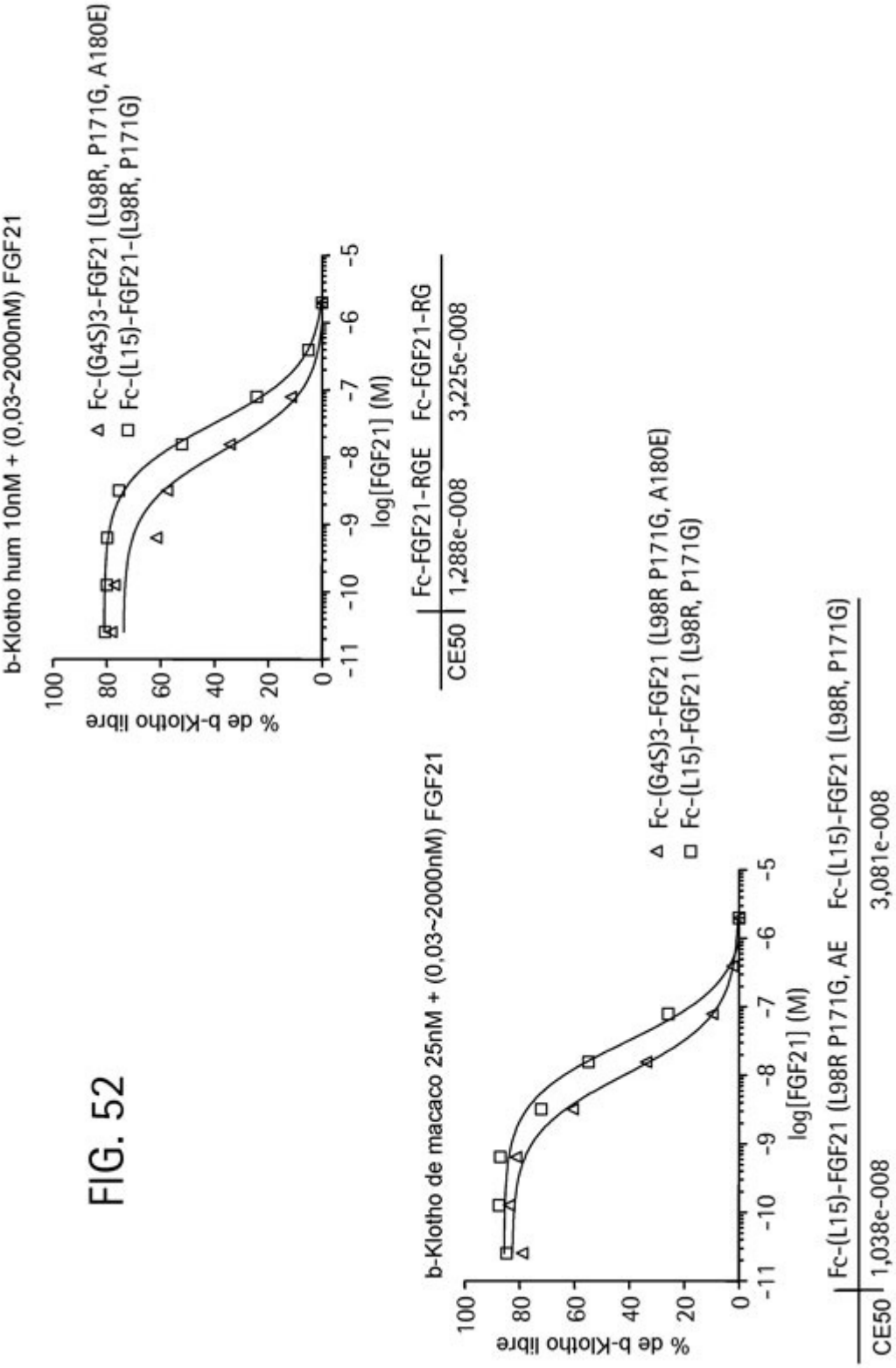

b-Klotho hum 10nM + (0,03~2000nM) FGF21
Δ Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E)
□ Fc-(L15)-FGF21-(L98R, P171G)
% de b-Klotho libre
log[FGF21] (M)
Fc-FGF21-RGE Fc-FGF21-RG
CE50 1,288e-008 3,225e-008
b-Klotho de macaco 25nM + (0,03~2000nM) FGF21
Δ Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R P171G, A180E)
□ Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
% de b-Klotho libre
log[FGF21] (M)
Fc-(L15)-FGF21 (L98R P171G, AE Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
CE50 1,038e-008 3,081e-008

FIG. 53A

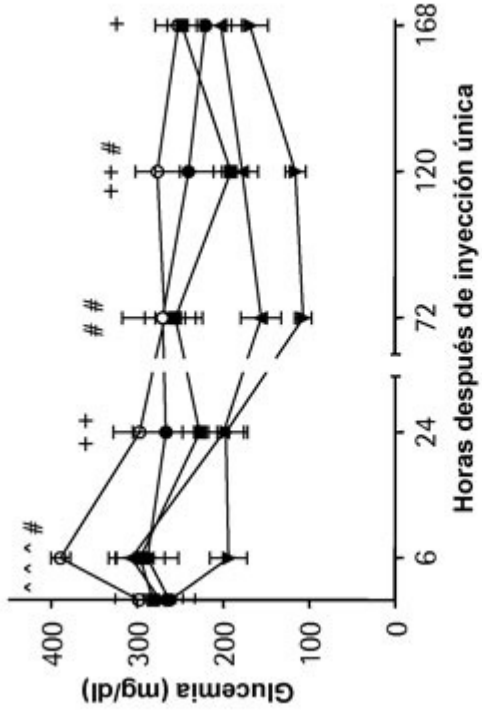
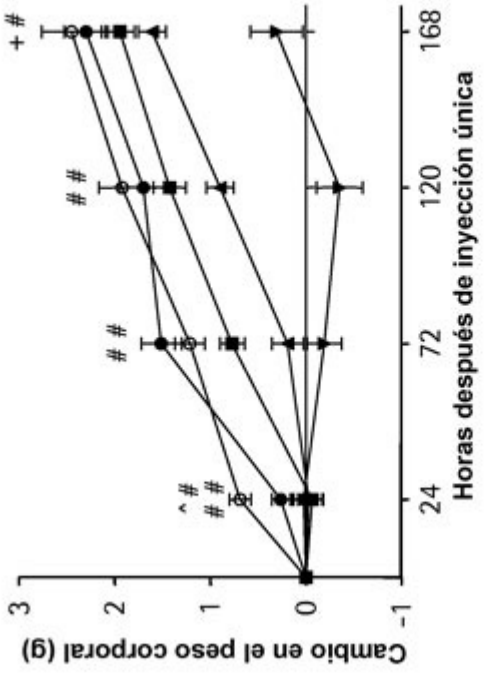


FIG. 53B



100µl de PBS
0,1 mg/kg de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E)
0,3 mg/kg de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E)
1 mg/kg de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E)
3 mg/kg de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E)

^ P < 0,05
+ P < 0,01
# P < 0,001

FIG. 54

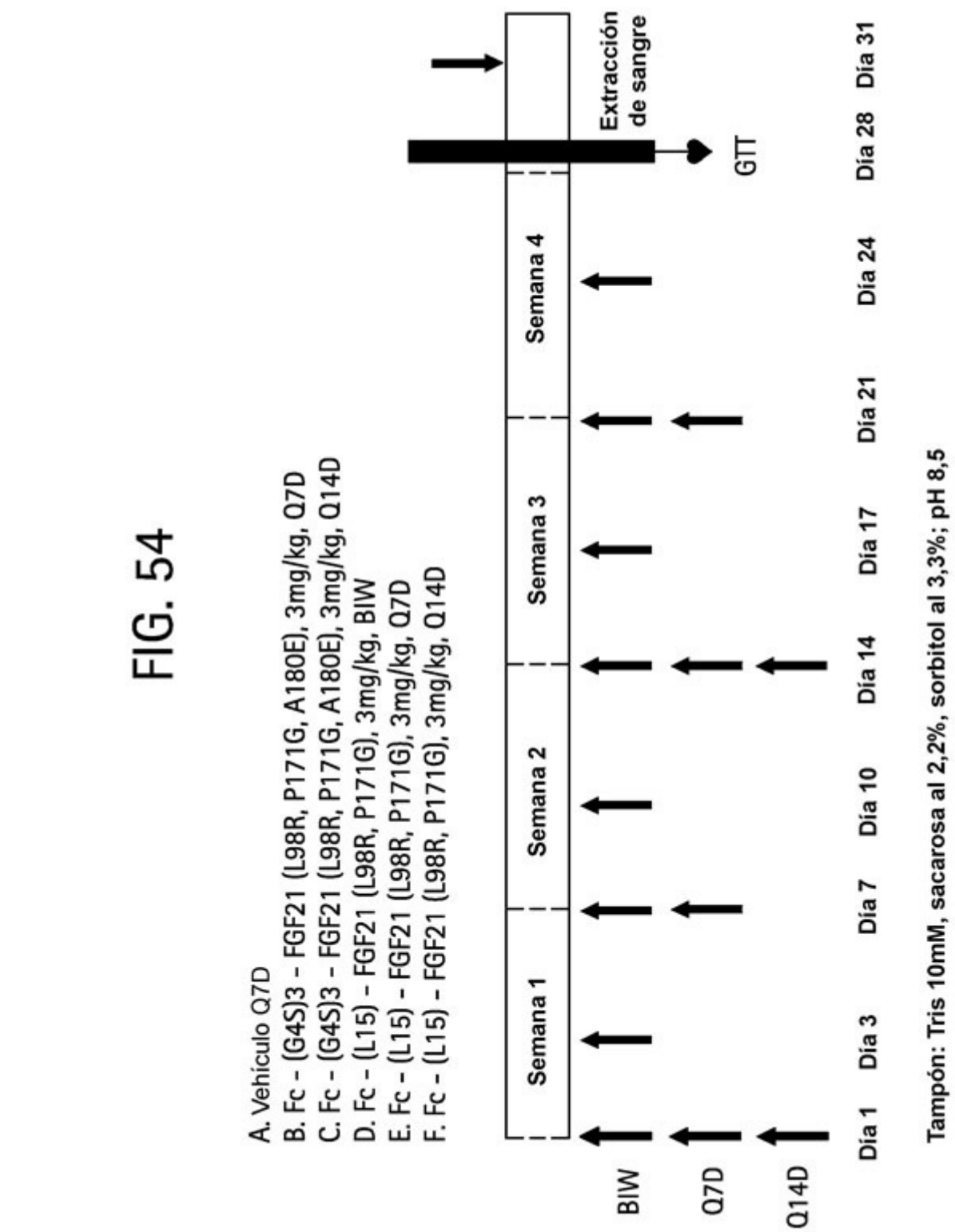

A. Vehículo Q7D
B. Fc - (G4S)3 - FGF21 (L98R, P171G, A180E), 3mg/kg, Q7D
C. Fc - (G4S)3 - FGF21 (L98R, P171G, A180E), 3mg/kg, Q14D
D. Fc - (L15) - FGF21 (L98R, P171G), 3mg/kg, BIW
E. Fc - (L15) - FGF21 (L98R, P171G), 3mg/kg, Q7D
F. Fc - (L15) - FGF21 (L98R, P171G), 3mg/kg, Q14D
Semana 1
Semana 2
Semana 3
Semana 4
Extracción de sangre
GTT
BIW
Q7D
Q14D
Día 1
Día 3
Día 7
Día 10
Día 14
Día 17
Día 21
Día 24
Día 28
Día 31
Tampón: Tris 10mM, sacarosa al 2,2%, sorbitol al 3,3%; pH 8,5

FIG. 55

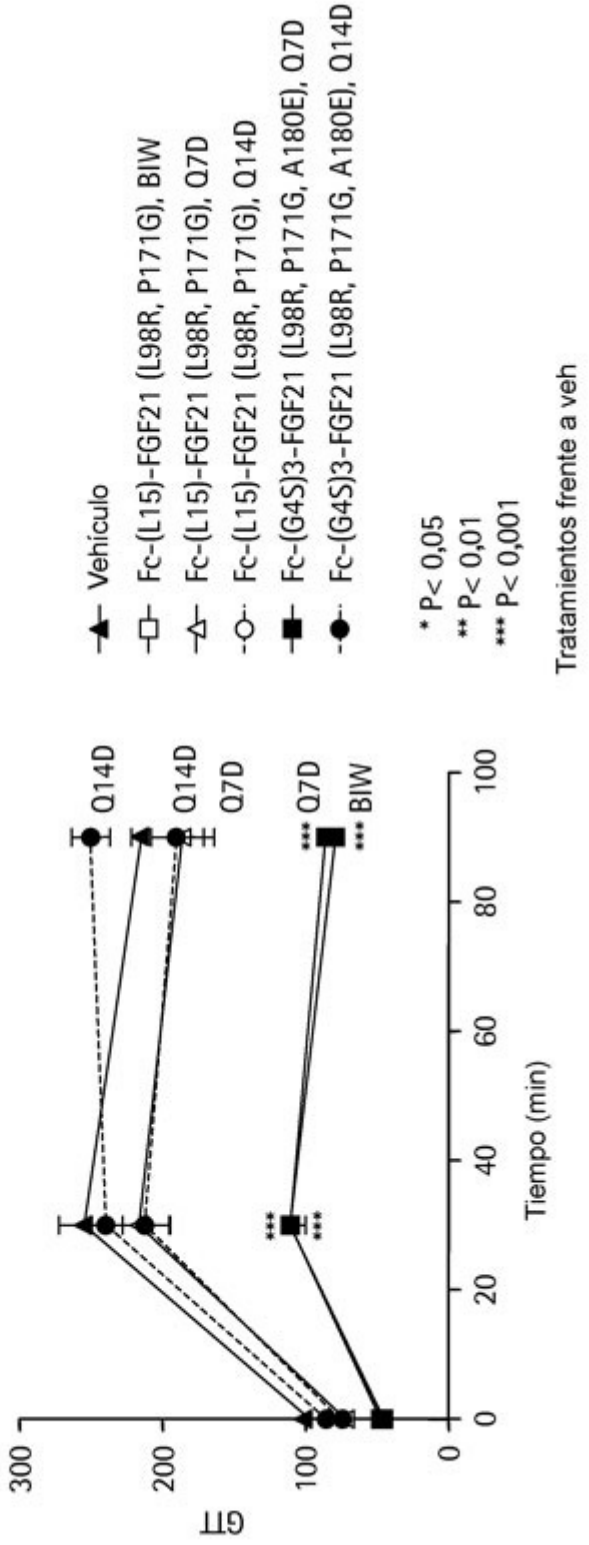

Vehículo
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G), BIW
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G), Q7D
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G), Q14D
Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E), Q7D
Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E), Q14D
* P< 0,05
** P< 0,01
*** P< 0,001
Tratamientos frente a veh
GT
300
200
100
0
0
20
40
60
80
100
Tiempo (min)
Q14D
Q14D
Q7D
*** Q7D
*** BIW
***
***

FIG. 56

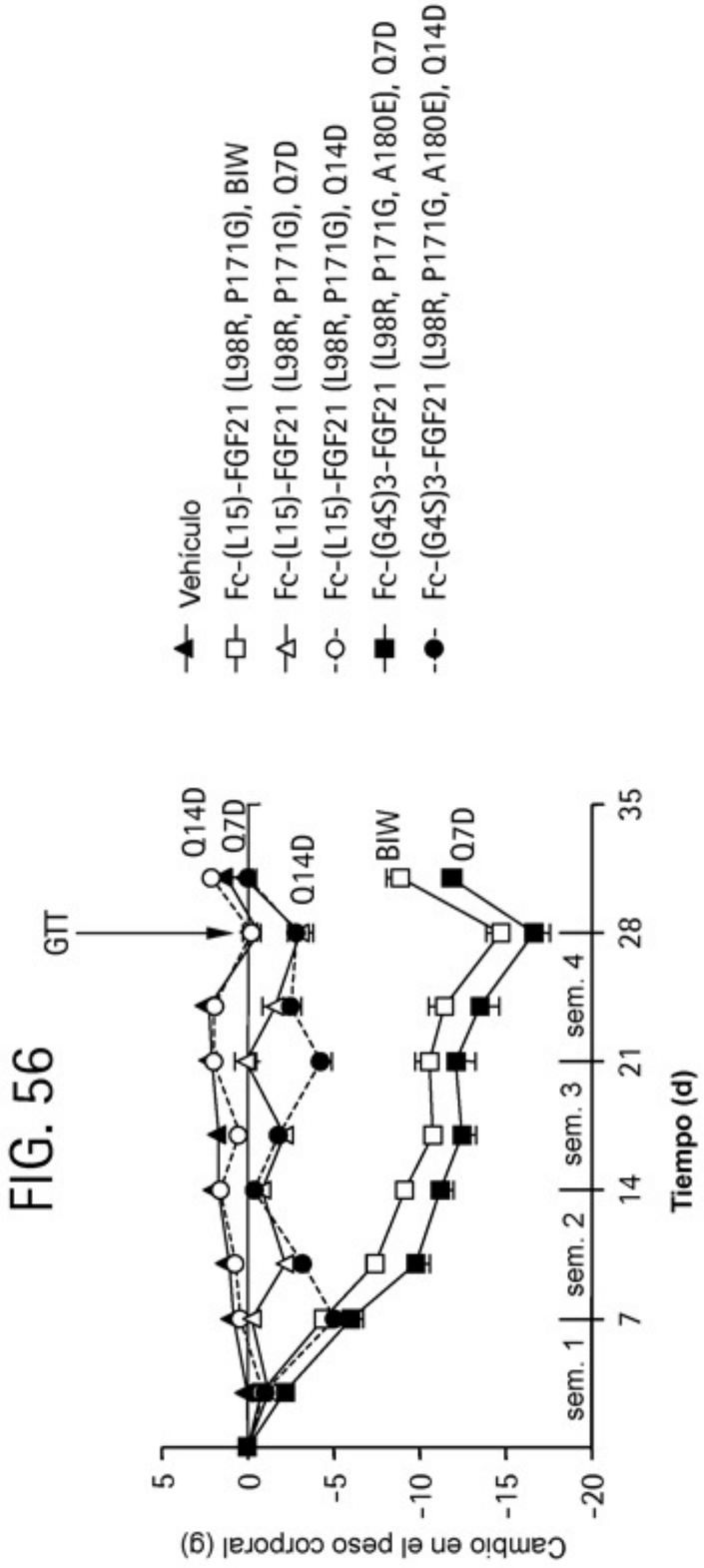

Vehículo
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G), BIW
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G), Q7D
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G), Q14D
Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E), Q7D
Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E), Q14D
GTT
Q14D
Q7D
Q14D
BIW
Q7D
5
0
-5
-10
-15
-20
Cambio en el peso corporal (g)
sem. 1
sem. 2
sem. 3
sem. 4
7
14
21
28
35
Tiempo (d)

FIG. 57

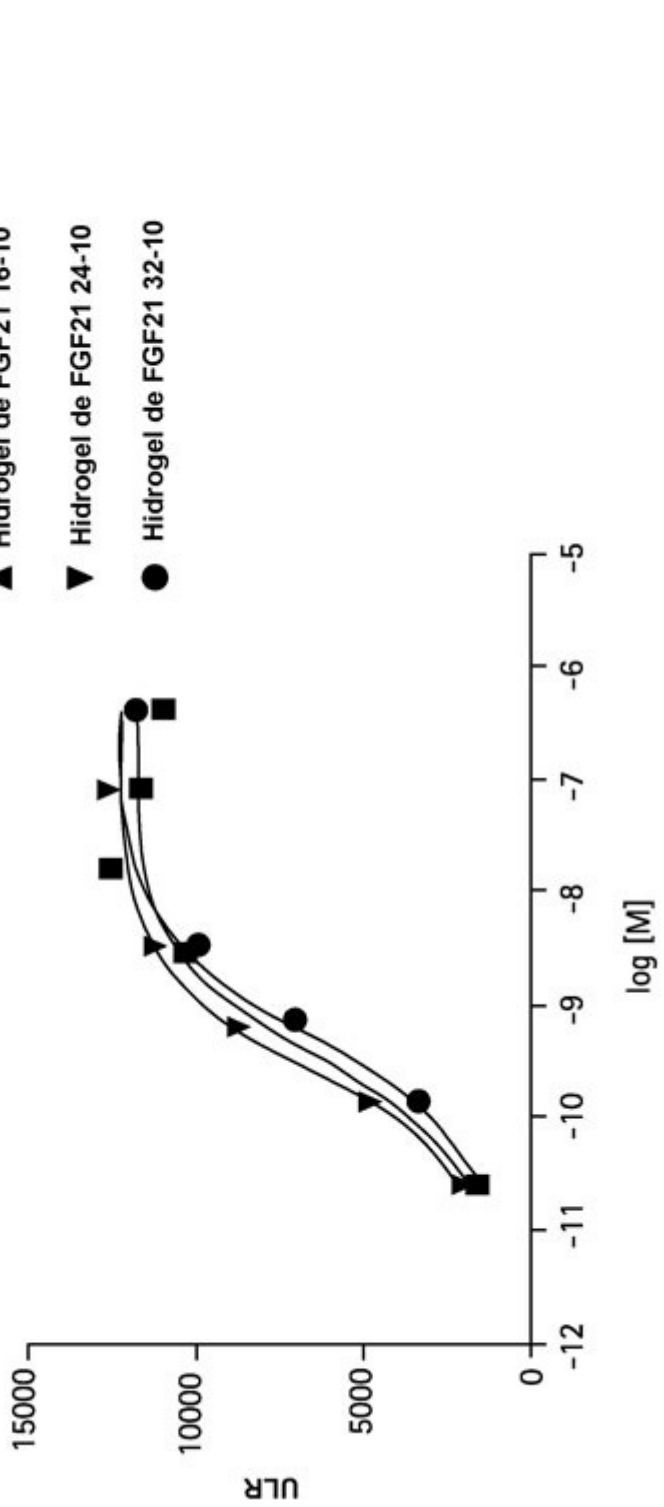

Control de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
Hidrogel de FGF21 16-10
Hidrogel de FGF21 24-10
Hidrogel de FGF21 32-10
ULR
15000
10000
5000
0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
-5
log [M]

FIG. 58

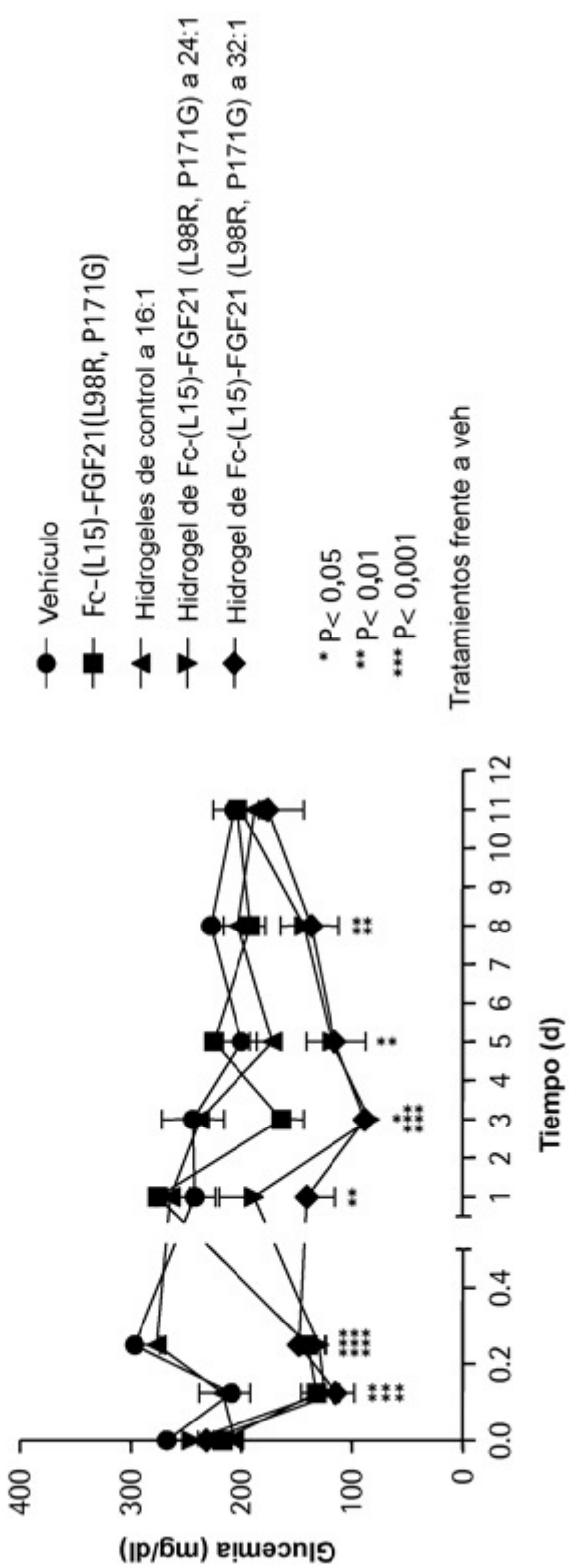

Vehículo
Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G)
Hidrogeles de control a 16:1
Hidrogel de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) a 24:1
Hidrogel de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) a 32:1
* P< 0,05
** P< 0,01
*** P< 0,001
Tratamientos frente a veh
Glucemia (mg/dl)
400
300
200
100
0
0.0
0.2
0.4
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
Tiempo (d)

FIG. 59

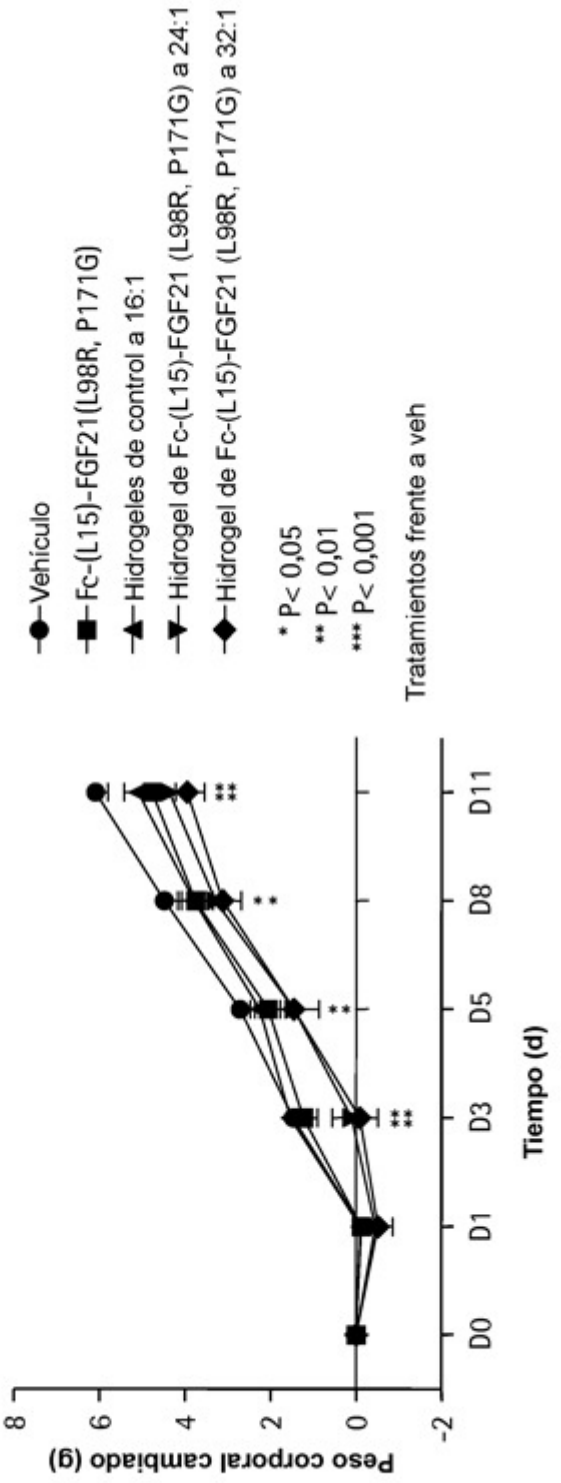

Vehículo
Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G)
Hidrogeles de control a 16:1
Hidrogel de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) a 24:1
Hidrogel de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) a 32:1
* P< 0,05
** P< 0,01
*** P< 0,001
Tratamientos frente a veh
Peso corporal cambiado (g)
8
6
4
2
0
-2
D0
D1
D3
D5
D8
D11
Tiempo (d)

FIG. 60

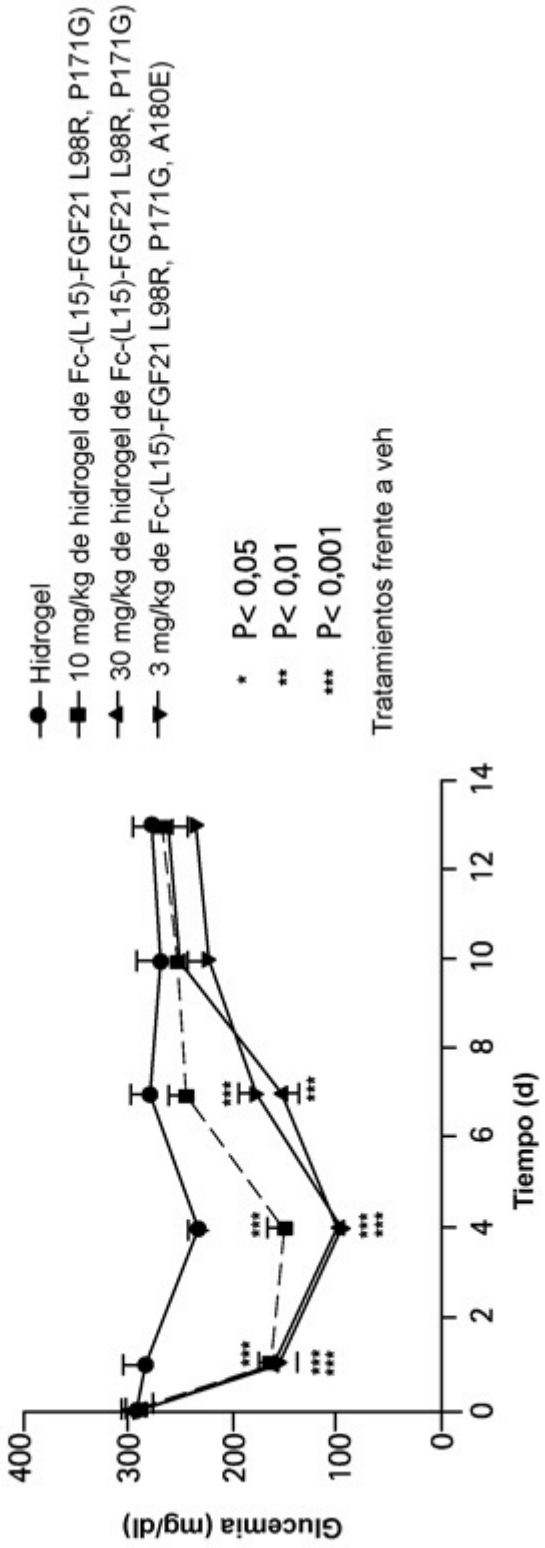

Hidrogel
10 mg/kg de hidrogel de Fc-(L15)-FGF21 L98R, P171G)
30 mg/kg de hidrogel de Fc-(L15)-FGF21 L98R, P171G)
3 mg/kg de Fc-(L15)-FGF21 L98R, P171G, A180E)
* P< 0,05
** P< 0,01
*** P< 0,001
Tratamientos frente a veh
Glucemia (mg/dl)
400
300
200
100
0
0
2
4
6
8
10
12
14
Tiempo (d)

FIG. 61

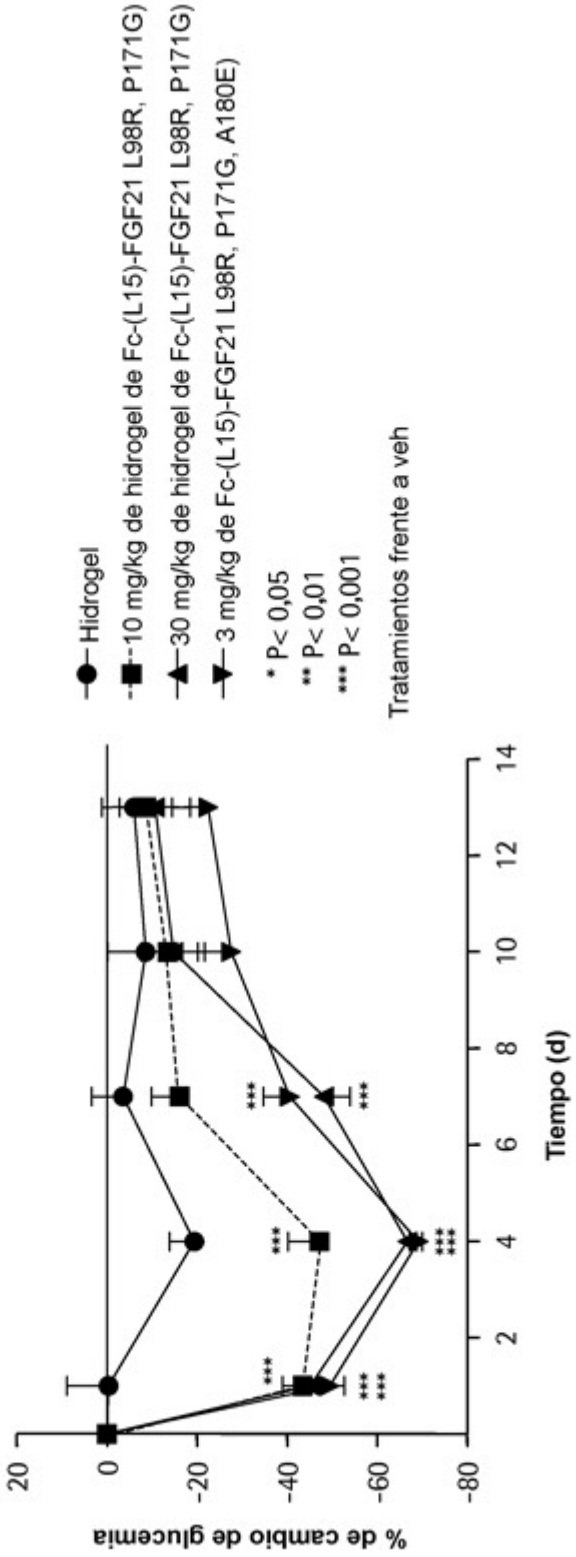

Hidrogel
10 mg/kg de hidrogel de Fc-(L15)-FGF21 L98R, P171G)
30 mg/kg de hidrogel de Fc-(L15)-FGF21 L98R, P171G)
3 mg/kg de Fc-(L15)-FGF21 L98R, P171G, A180E)
* P< 0,05
** P< 0,01
*** P< 0,001
Tratamientos frente a veh
% de cambio de glucemia
Tiempo (d)
20
0
-20
-40
-60
-80
2
4
6
8
10
12
14
***

FIG. 62

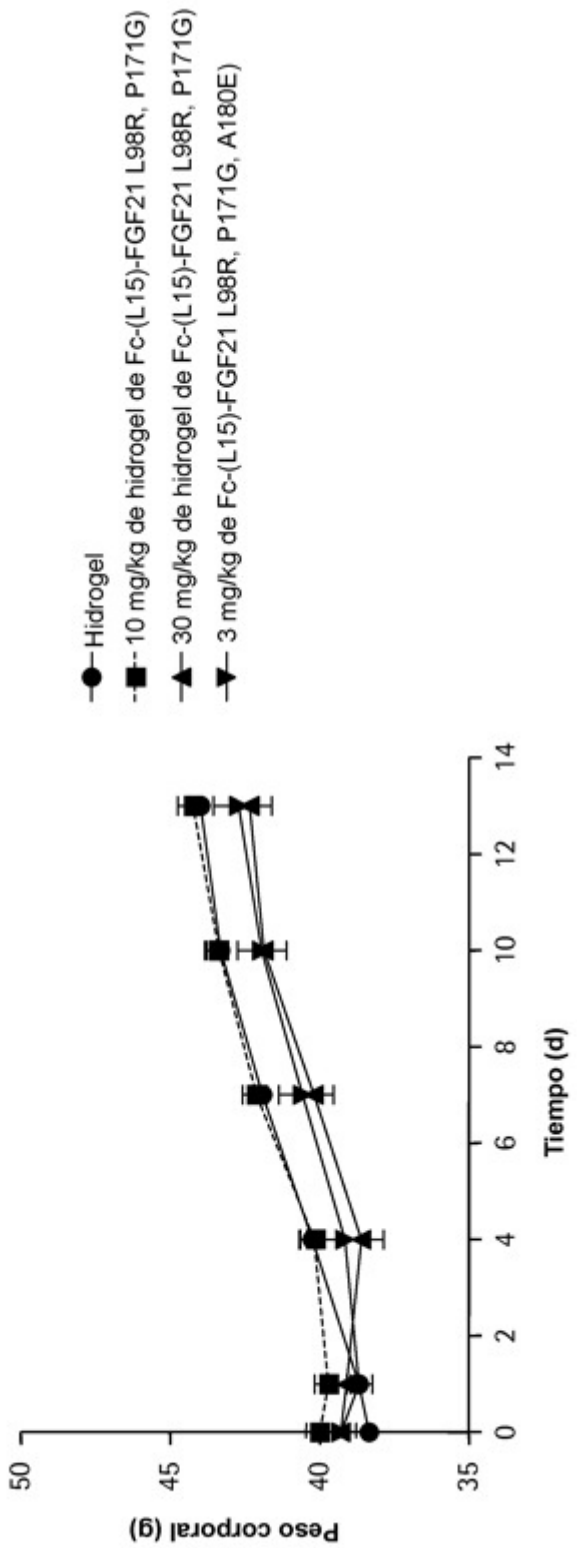

Hidrogel
10 mg/kg de hidrogel de Fc-(L15)-FGF21 L98R, P171G)
30 mg/kg de hidrogel de Fc-(L15)-FGF21 L98R, P171G)
3 mg/kg de Fc-(L15)-FGF21 L98R, P171G, A180E)
Peso corporal (g)
50
45
40
35
0
2
4
6
8
10
12
14
Tiempo (d)

FIG. 63

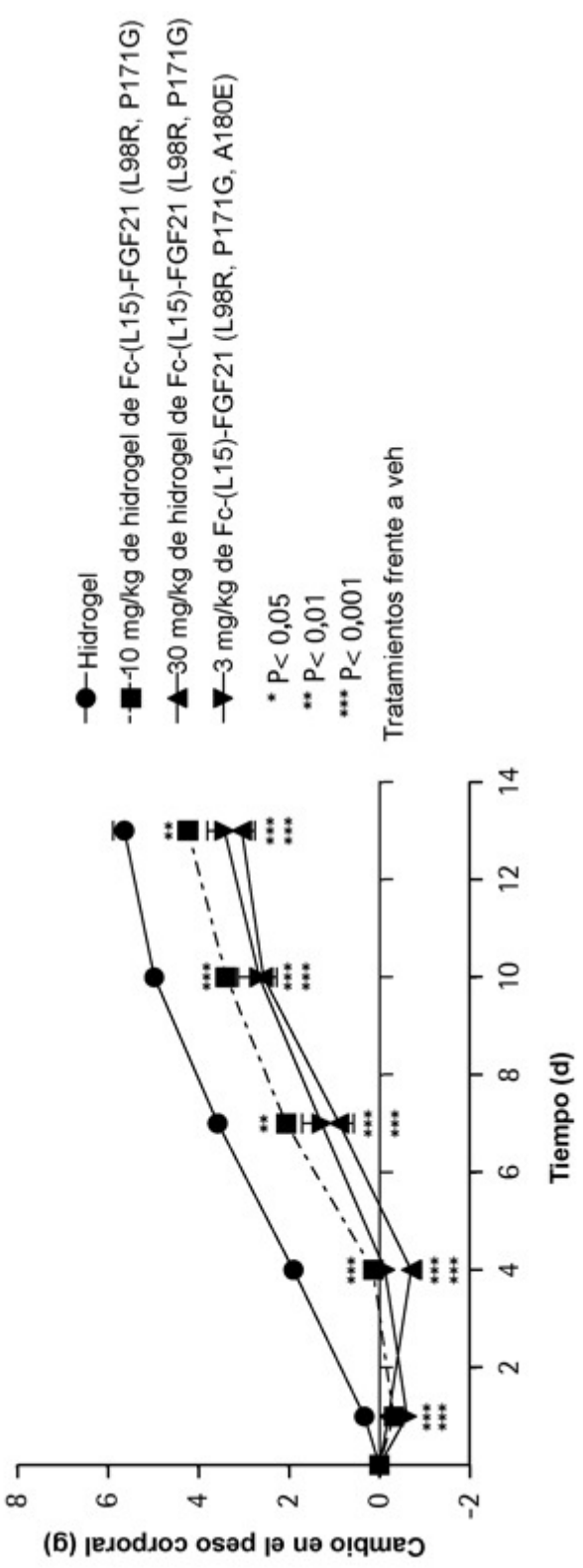

Hidrogel
10 mg/kg de hidrogel de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
30 mg/kg de hidrogel de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
3 mg/kg de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E)
* P< 0,05
** P< 0,01
*** P< 0,001
Tratamientos frente a veh
Cambio en el peso corporal (g)
Tiempo (d)
8
6
4
2
0
-2
2
4
6
8
10
12
14

FIG. 64

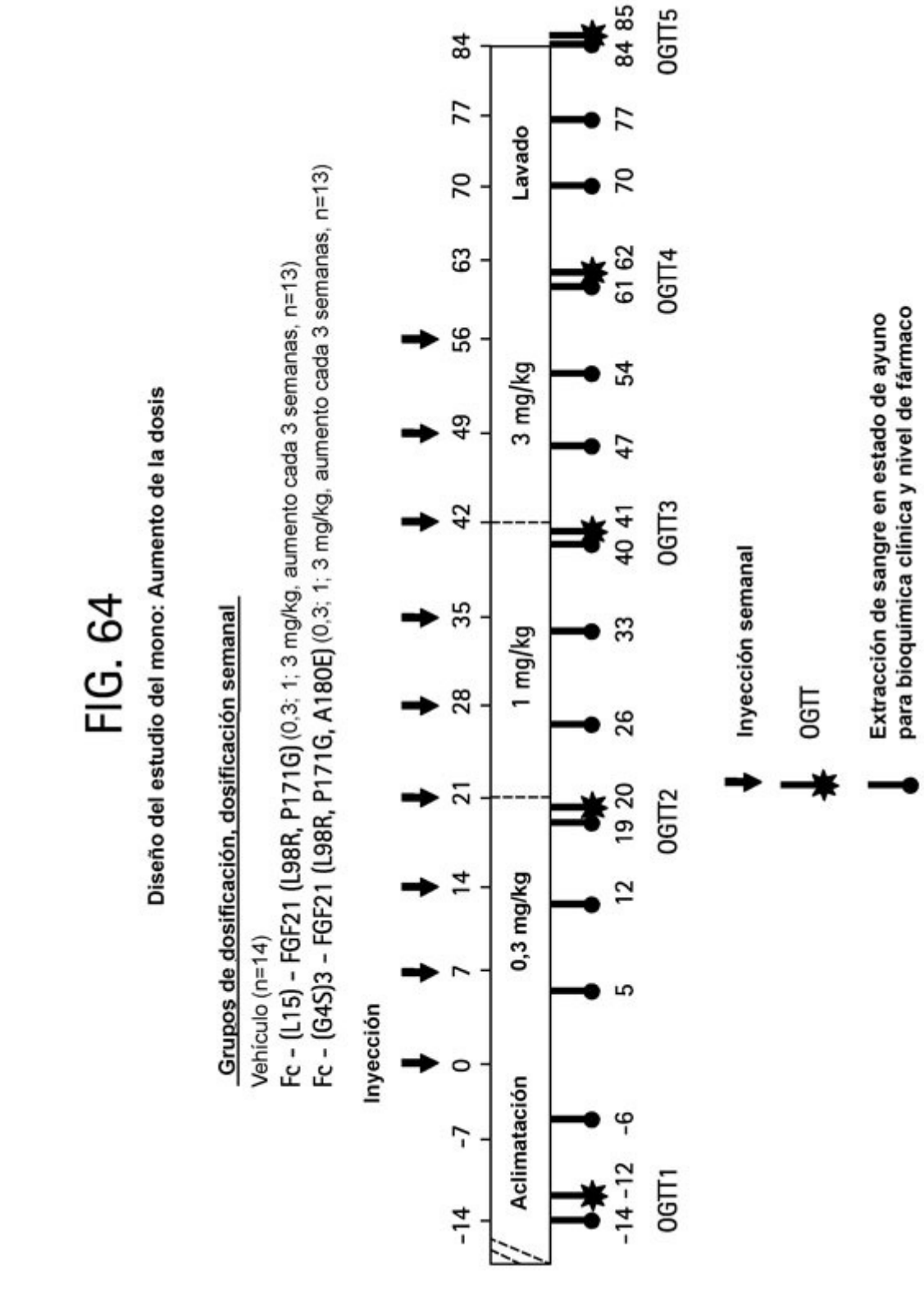

Diseño del estudio del mono: Aumento de la dosis
Grupos de dosificación, dosificación semanal
Vehículo (n=14)
Fc - (L15) - FGF21 (L98R, P171G) (0,3; 1; 3 mg/kg, aumento cada 3 semanas, n=13)
Fc - (G4S)3 - FGF21 (L98R, P171G, A180E) (0,3; 1; 3 mg/kg, aumento cada 3 semanas, n=13)
Inyección
-14
-7
0
7
14
21
28
35
42
49
56
63
70
77
84
Aclimatación
0,3 mg/kg
1 mg/kg
3 mg/kg
Lavado
-14 -12
-6
5
12
19 20
26
33
40 41
47
54
61 62
70
77
84 85
OGTT1
OGTT2
OGTT3
OGTT4
OGTT5
Inyección semanal
OGTT
Extracción de sangre en estado de ayuno
para bioquímica clínica y nivel de fármaco

FIG. 65

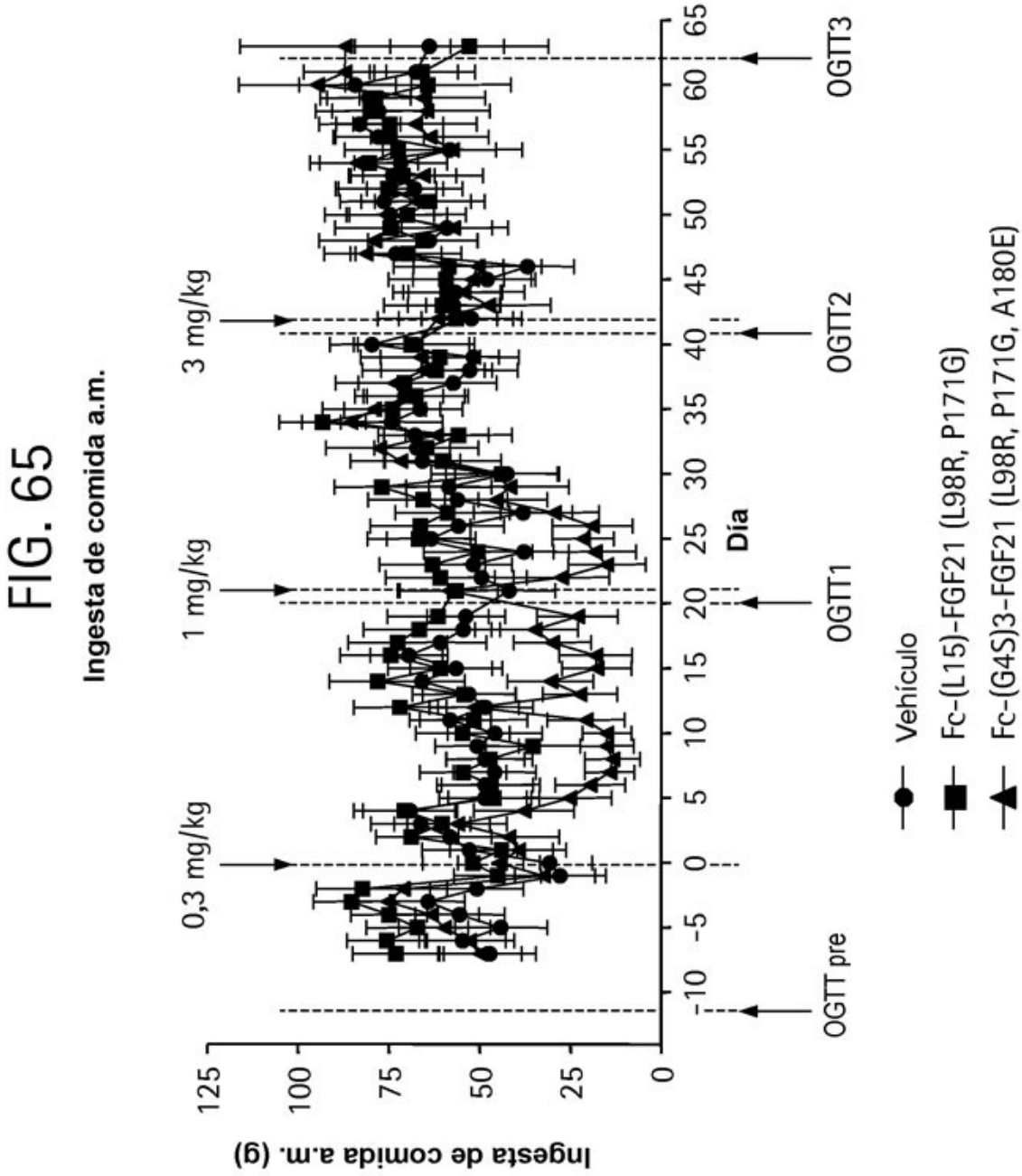

Ingesta de comida a.m.
Ingesta de comida a.m. (g)
125
100
75
50
25
0
0,3 mg/kg
1 mg/kg
3 mg/kg
-10
-5
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65
Dia
OGTT pre
OGTT1
OGTT2
OGTT3
Vehículo
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E)

FIG. 66

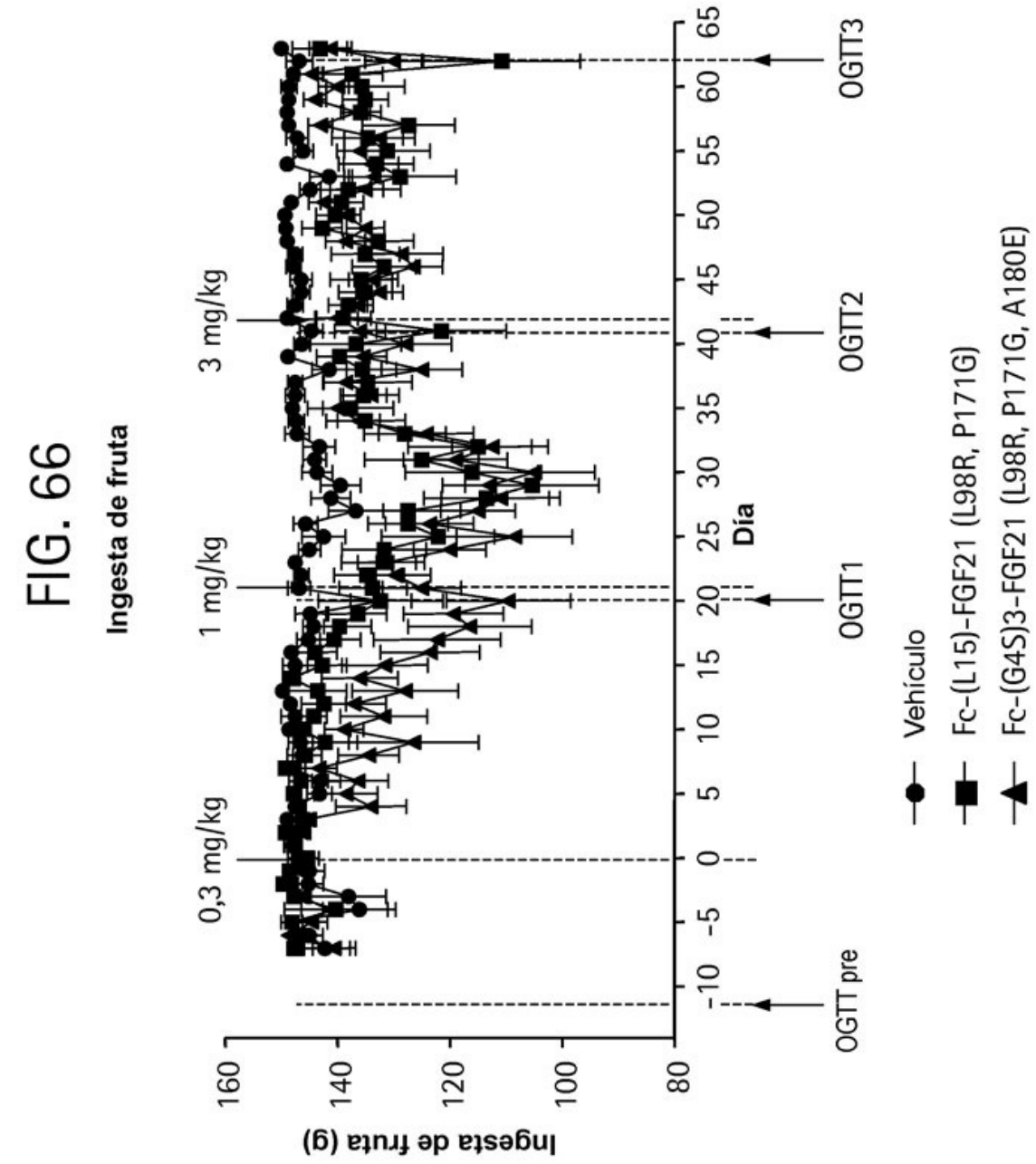

Ingesta de fruta
0,3 mg/kg
1 mg/kg
3 mg/kg
OGTT pre
OGTT1
OGTT2
OGTT3
Día
Ingesta de fruta (g)
Vehículo
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E)

FIG. 67

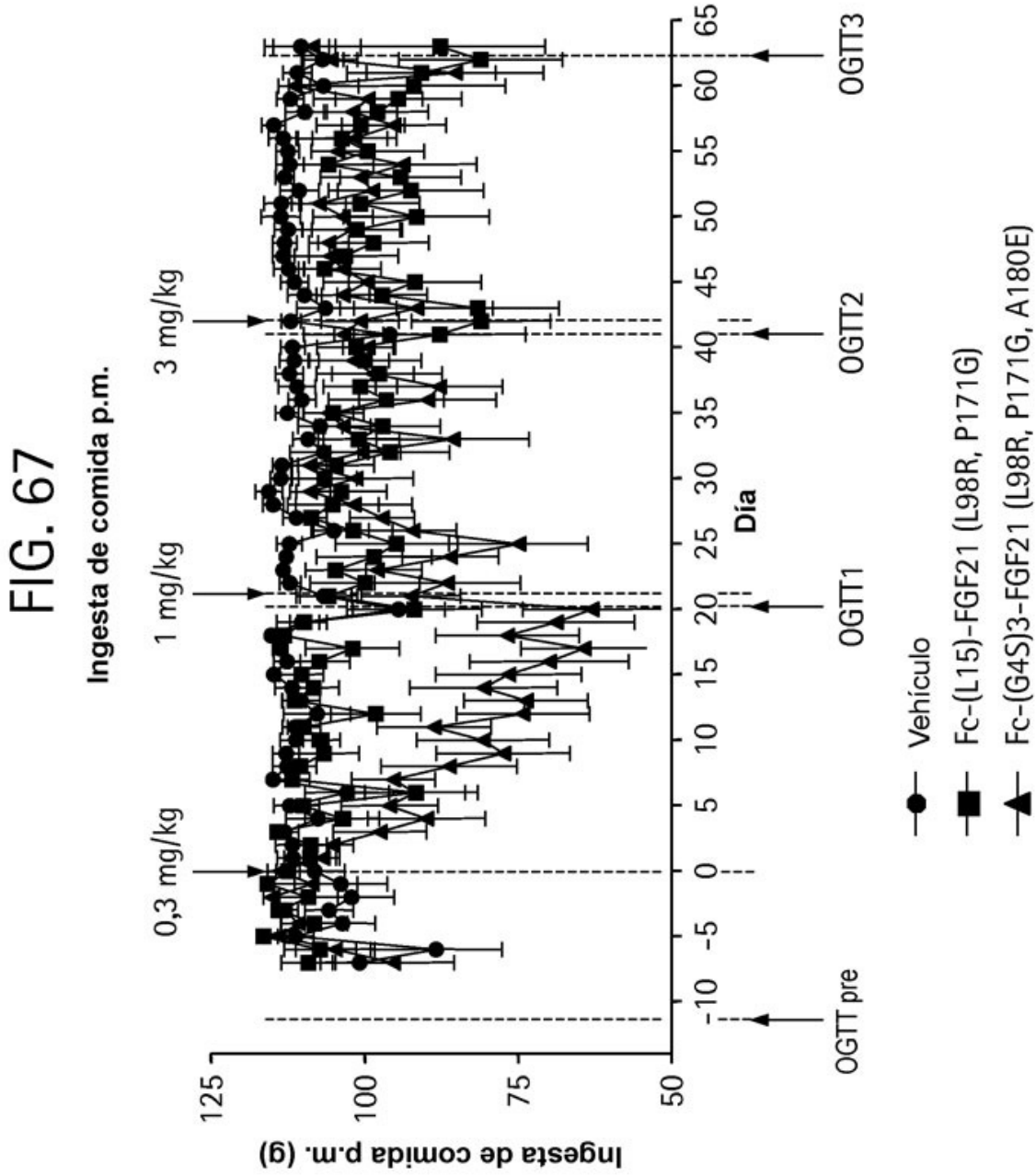

Ingesta de comida p.m.
0,3 mg/kg
1 mg/kg
3 mg/kg
Ingesta de comida p.m. (g)
125
100
75
50
-10
-5
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65
Día
OGTT pre
OGTT1
OGTT2
OGTT3
Vehículo
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E)

FIG. 68

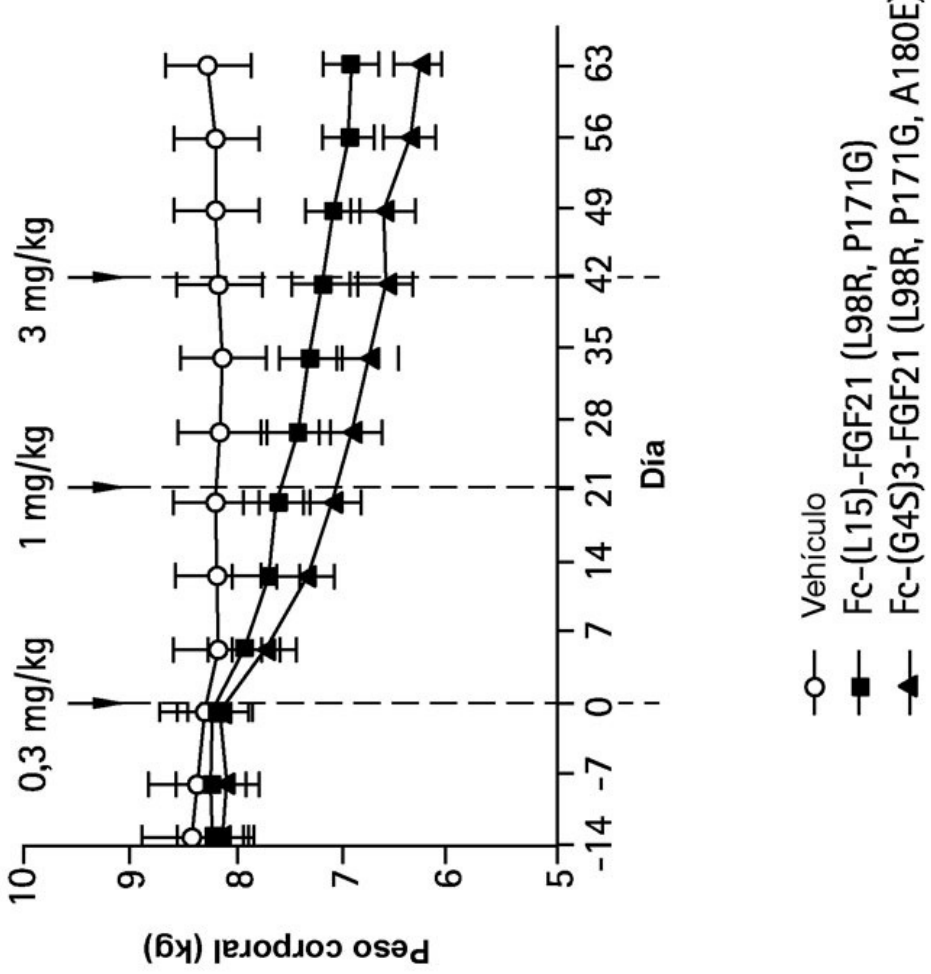

IMC
0,3 mg/kg
1 mg/kg
3 mg/kg
Peso corporal (kg)
10
9
8
7
6
5
-14
-7
0
7
14
21
28
35
42
49
56
63
Día
Vehículo
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E)

FIG. 69

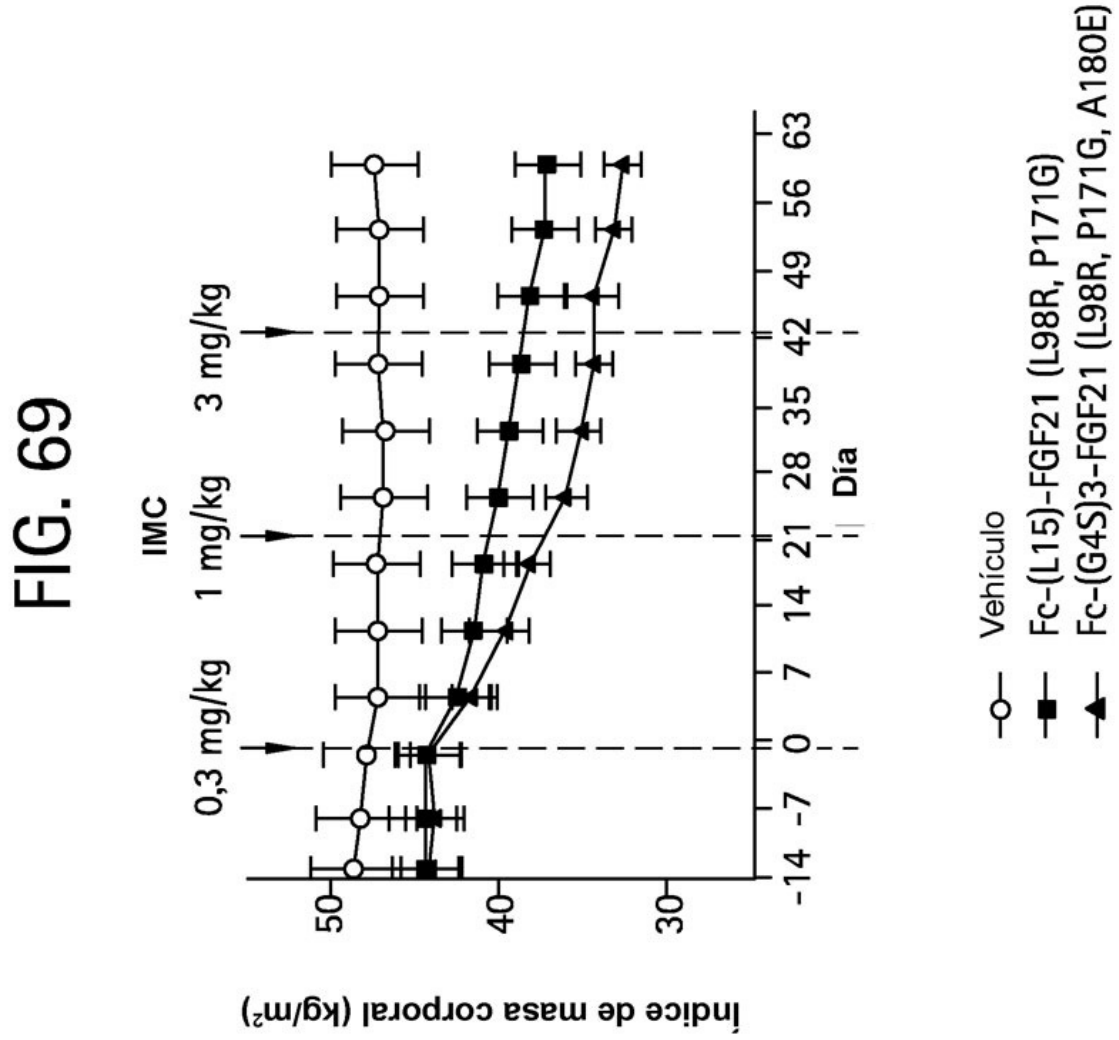

IMC
0,3 mg/kg
1 mg/kg
3 mg/kg
Día
-14
-7
0
7
14
21
28
35
42
49
56
63
50
40
30
Índice de masa corporal (kg/m²)
Vehículo
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E)

FIG. 70

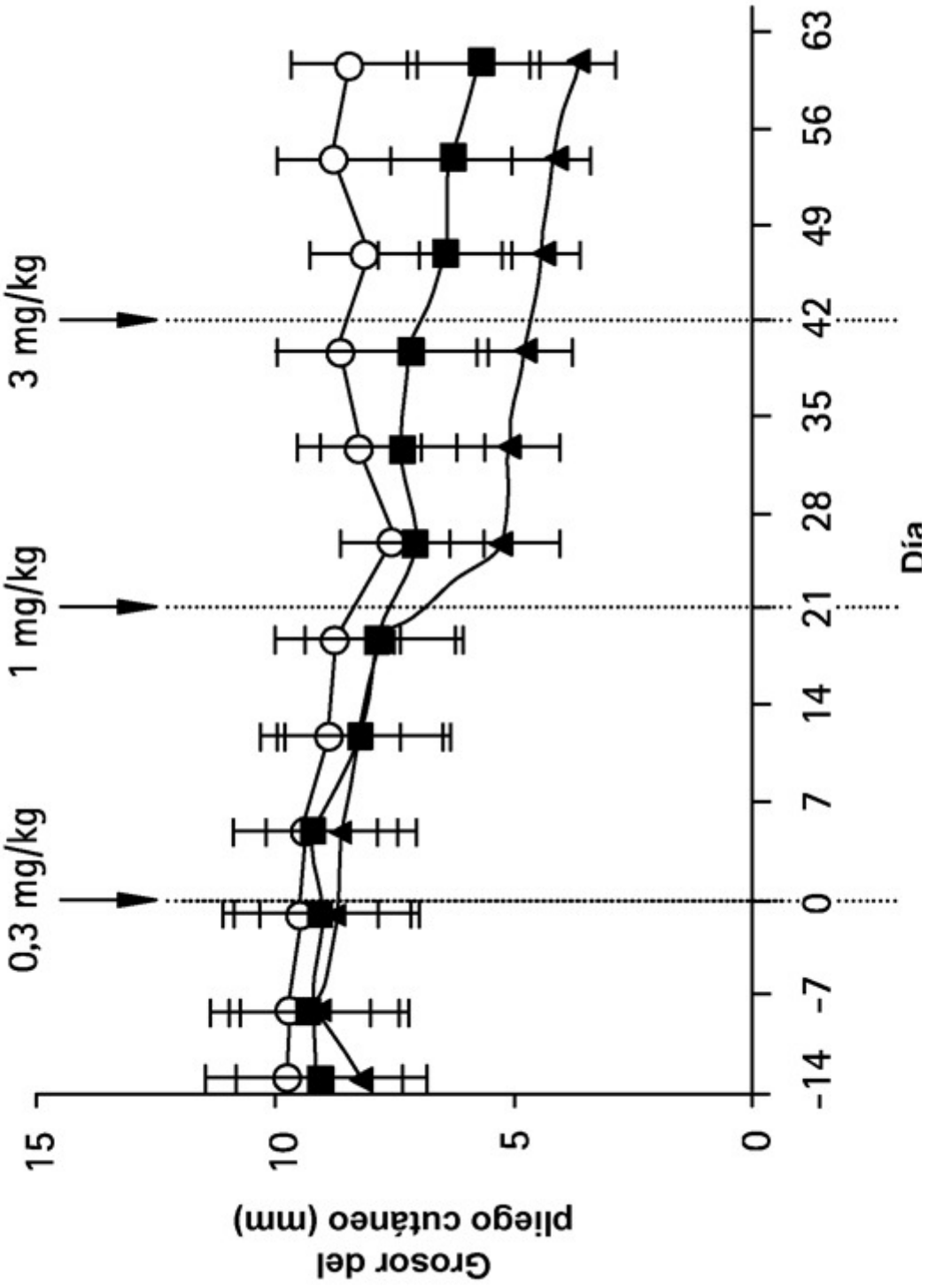

Grosor del pliego cutáneo (mm)
15
10
5
0
0,3 mg/kg
1 mg/kg
3 mg/kg
-14
-7
0
7
14
21
28
35
42
49
56
63
Día

FIG. 71

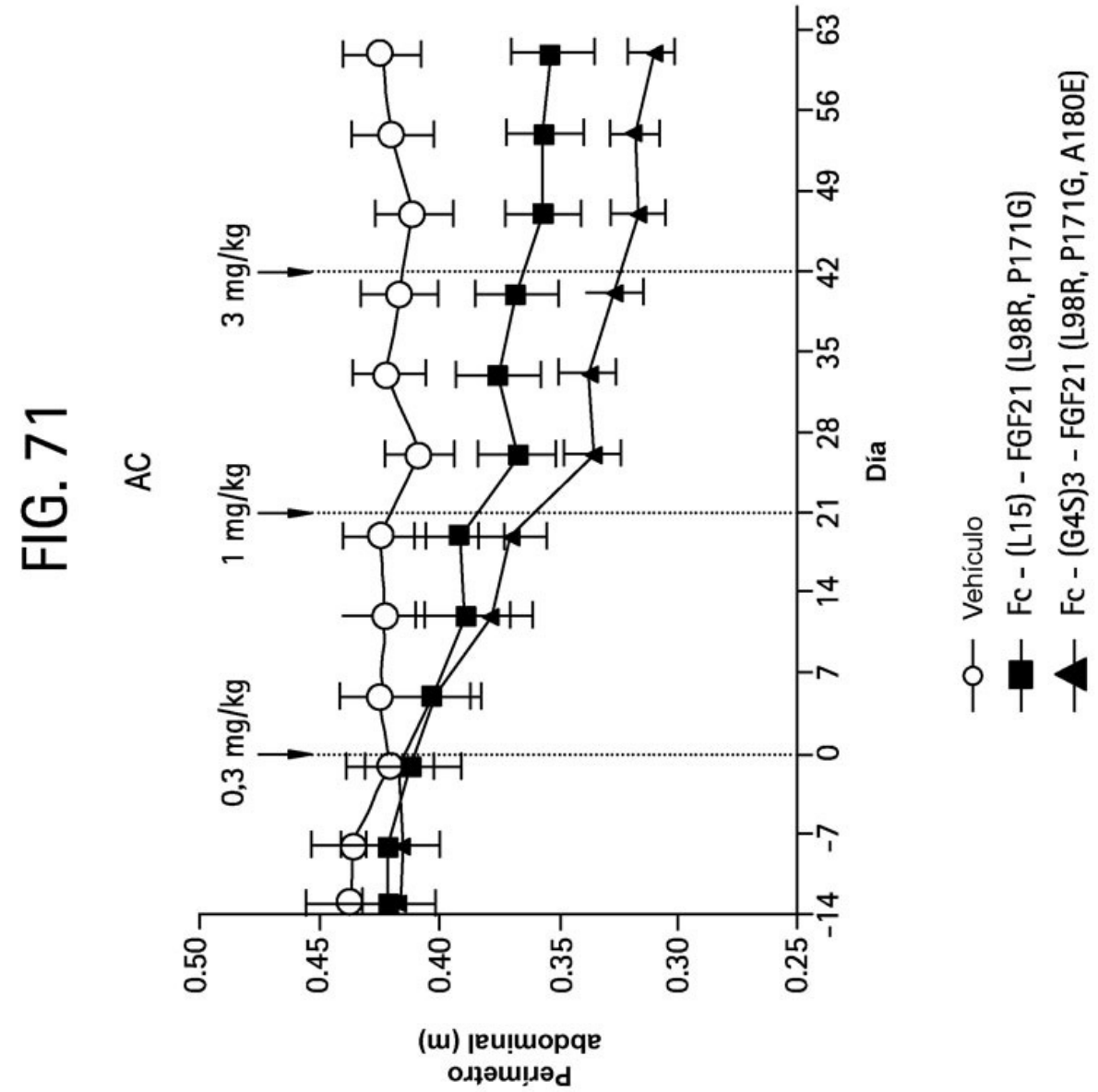

AC
0,3 mg/kg
1 mg/kg
3 mg/kg
Perímetro abdominal (m)
0.50
0.45
0.40
0.35
0.30
0.25
-14
-7
0
7
14
21
28
35
42
49
56
63
Día
Vehículo
Fc - (L15) - FGF21 (L98R, P171G)
Fc - (G4S)3 - FGF21 (L98R, P171G, A180E)

FIG.72

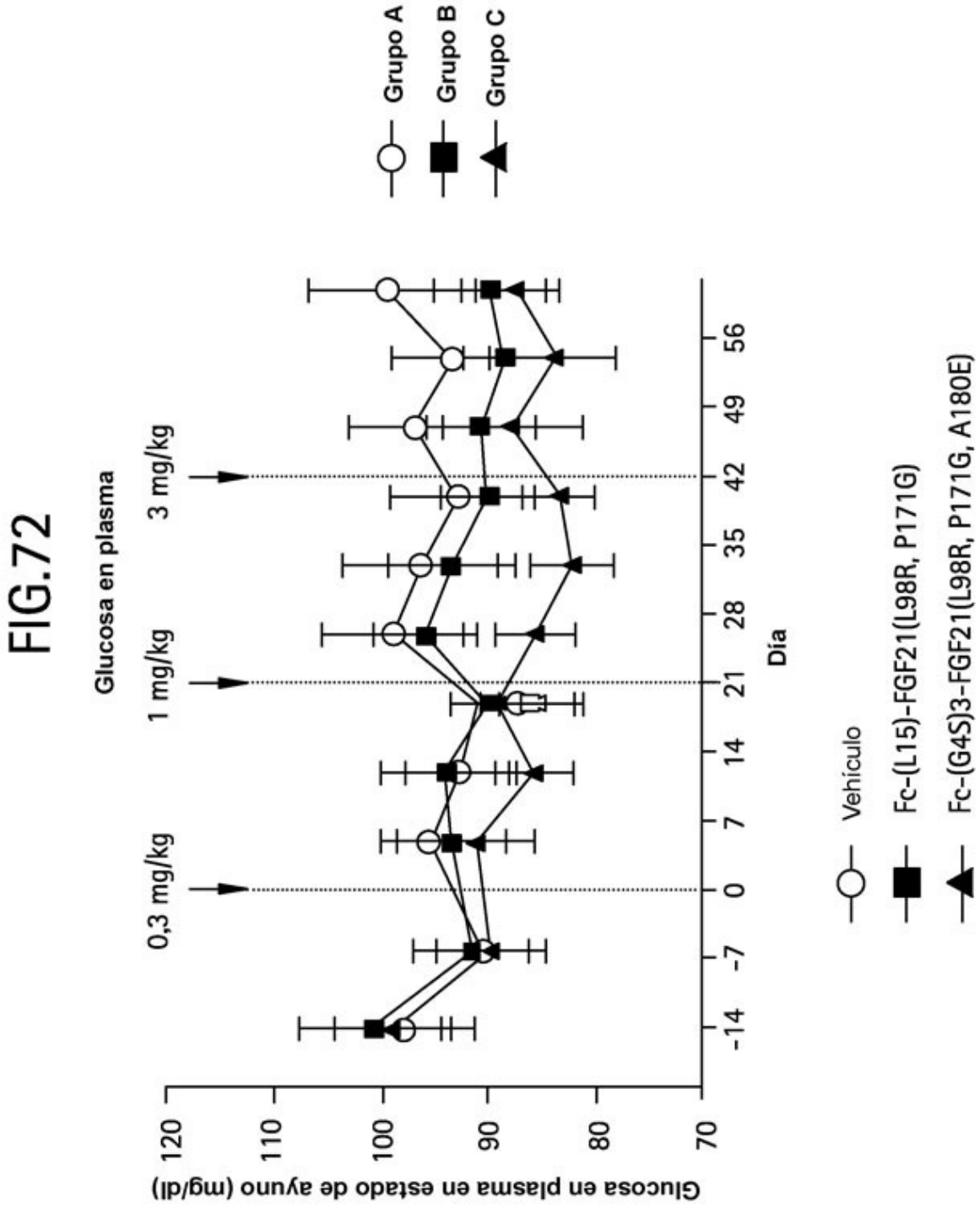

Glucosa en plasma
0,3 mg/kg
1 mg/kg
3 mg/kg
Grupo A
Grupo B
Grupo C
Glucosa en plasma en estado de ayuno (mg/dl)
120
110
100
90
80
70
-14
-7
0
7
14
21
28
35
42
49
56
Día
Vehículo
Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G)
Fc-(G4S)3-FGF21(L98R, P171G, A180E)

FIG. 73

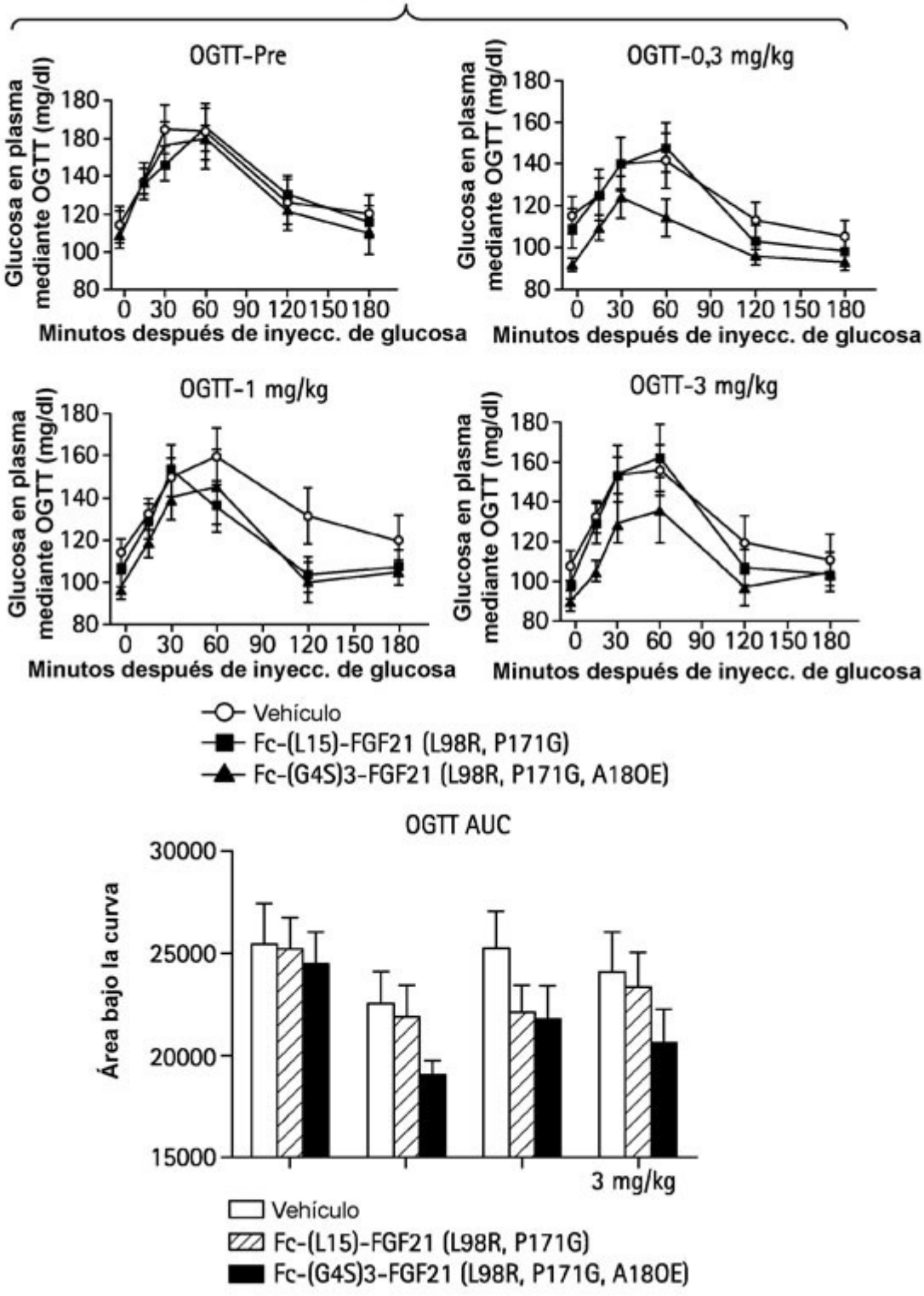

OGTT-Pre
OGTT-0,3 mg/kg
OGTT-1 mg/kg
OGTT-3 mg/kg
Glucosa en plasma mediante OGTT (mg/dl)
Minutos después de inyecc. de glucosa
Vehículo
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A18OE)
OGTT AUC
Área bajo la curva
3 mg/kg

FIG. 74

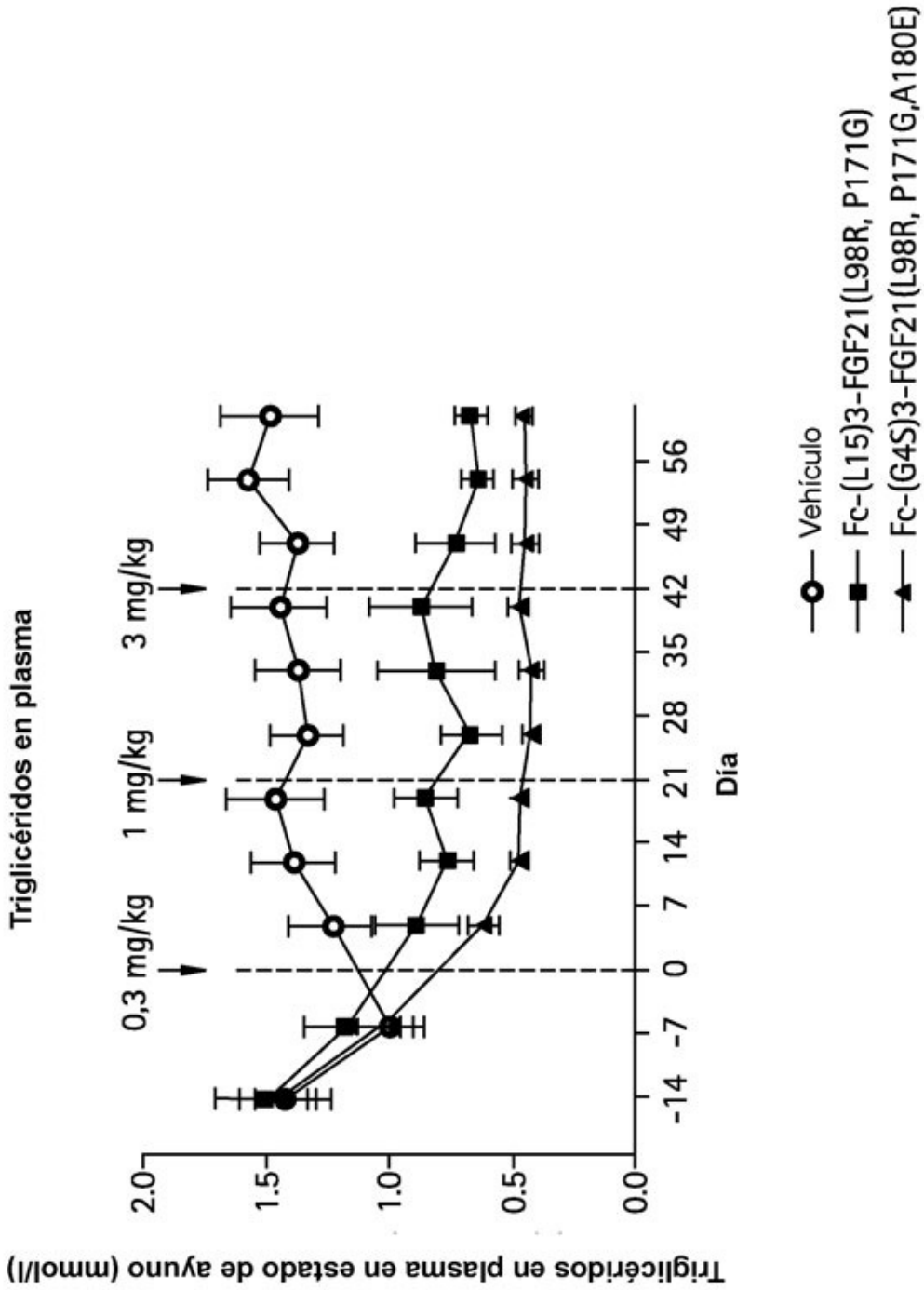

Triglicéridos en plasma
0,3 mg/kg
1 mg/kg
3 mg/kg
Triglicéridos en plasma en estado de ayuno (mmol/l)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-14
-7
0
7
14
21
28
35
42
49
56
Día
Vehículo
Fc-(L15)3-FGF21(L98R, P171G)
Fc-(G4S)3-FGF21(L98R, P171G,A180E)

FIG. 75

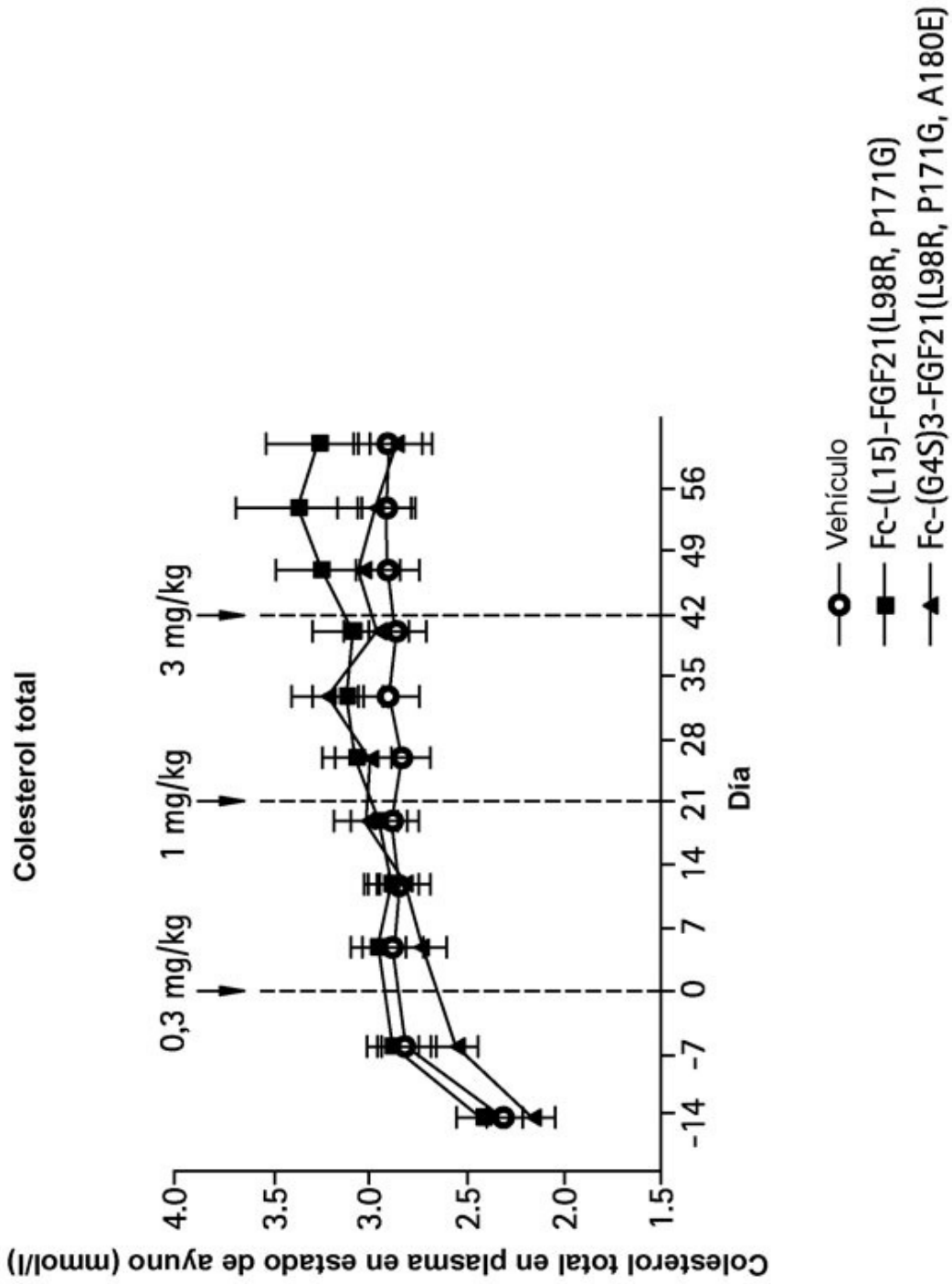

Colesterol total
0,3 mg/kg
1 mg/kg
3 mg/kg
Día
-14
-7
0
7
14
21
28
35
42
49
56
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
Colesterol total en plasma en estado de ayuno (mmol/l)
Vehículo
Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G)
Fc-(G4S)3-FGF21(L98R, P171G, A180E)

FIG. 76

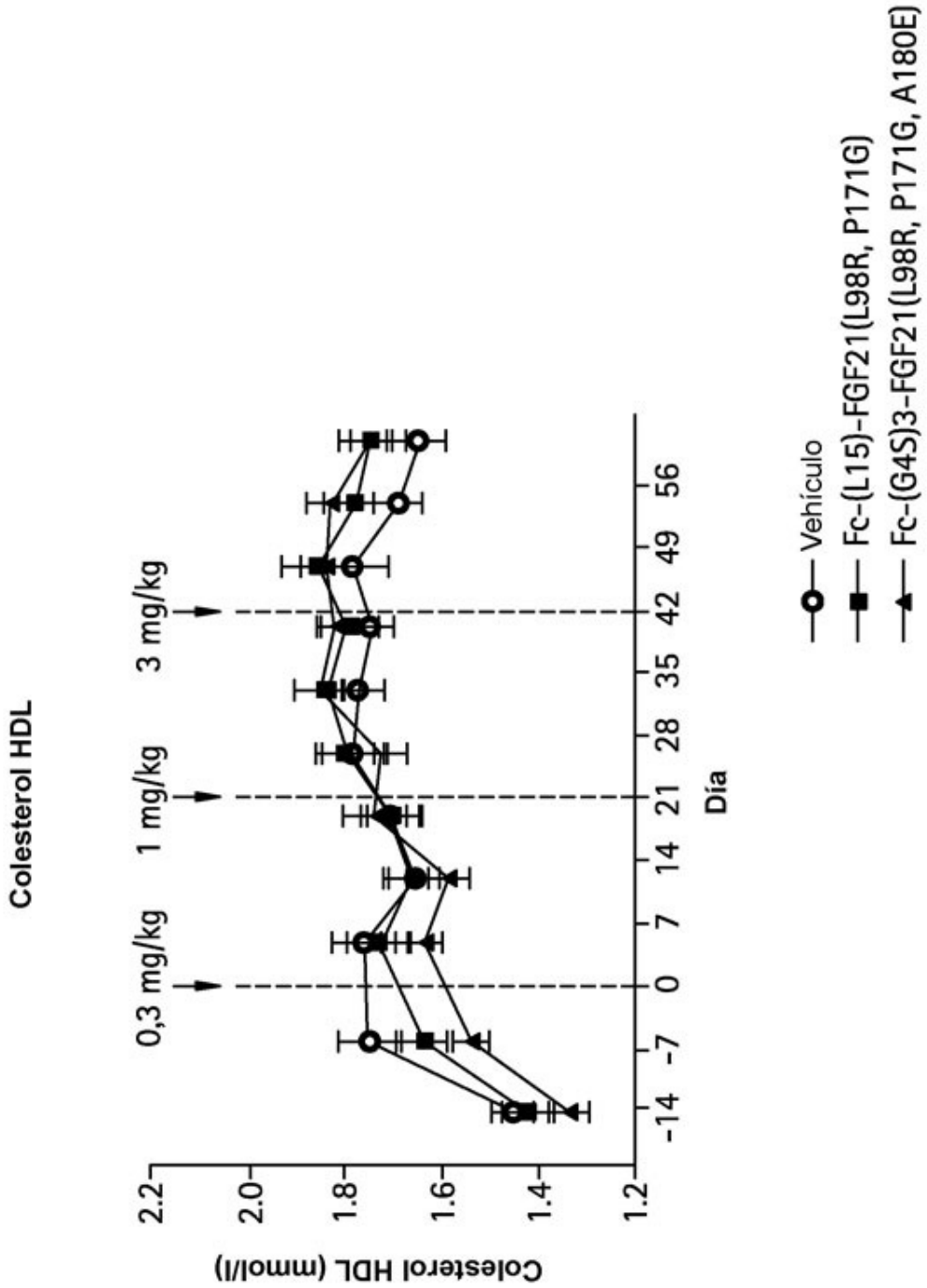

Colesterol HDL
0,3 mg/kg
1 mg/kg
3 mg/kg
Colesterol HDL (mmol/l)
2.2
2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
-14
-7
0
7
14
21
28
35
42
49
56
Día
Vehículo
Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G)
Fc-(G4S)3-FGF21(L98R, P171G, A180E)

FIG. 77

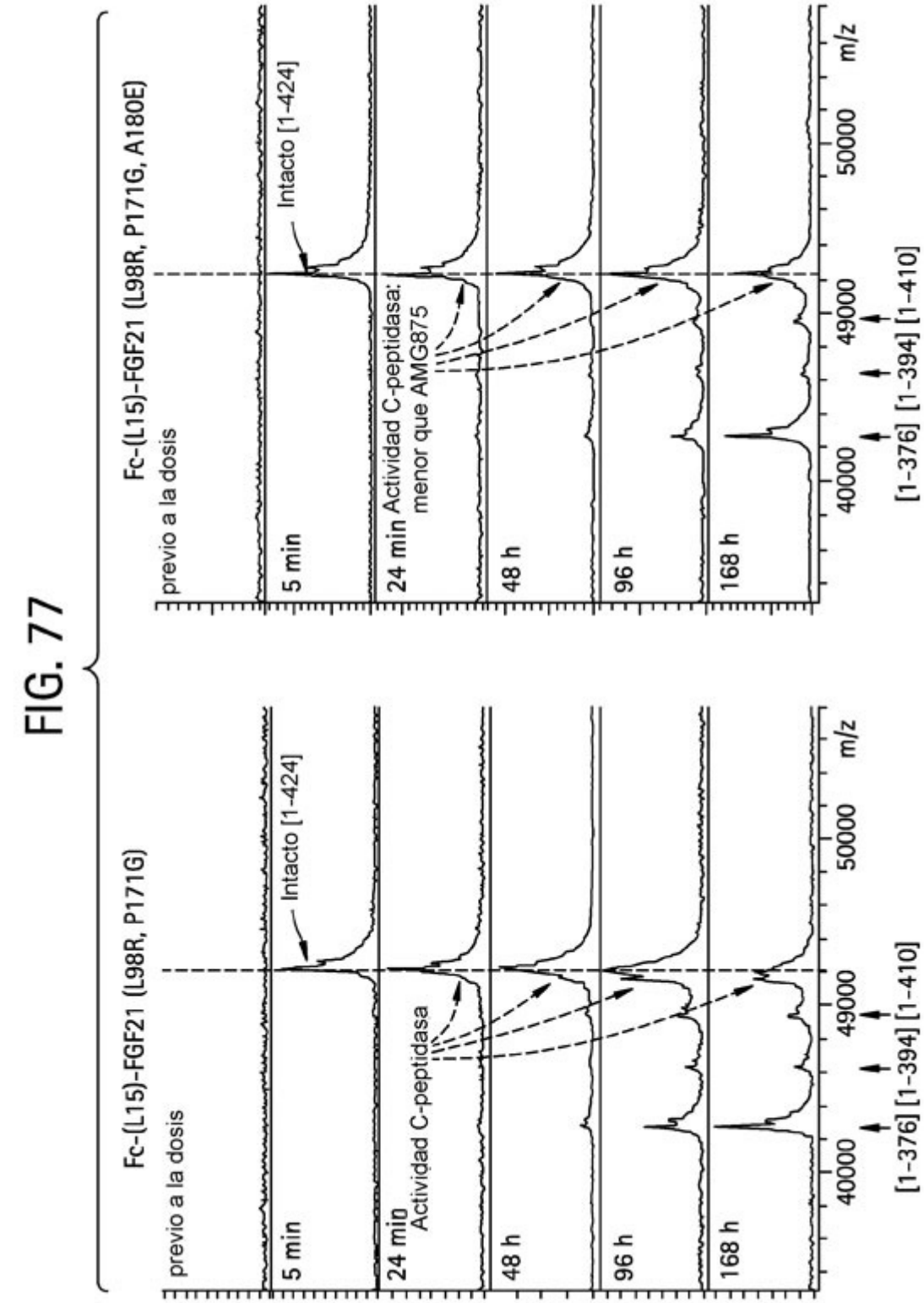

Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
previo a la dosis
5 min
Intacto [1-424]
24 min
Actividad C-peptidasa
48 h
96 h
168 h
40000
49000
50000
m/z
[1-376]
[1-394]
[1-410]
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E)
previo a la dosis
5 min
Intacto [1-424]
24 min
Actividad C-peptidasa: menor que AMG875
48 h
96 h
168 h
40000
49000
50000
m/z
[1-376]
[1-394]
[1-410]

FIG. 78

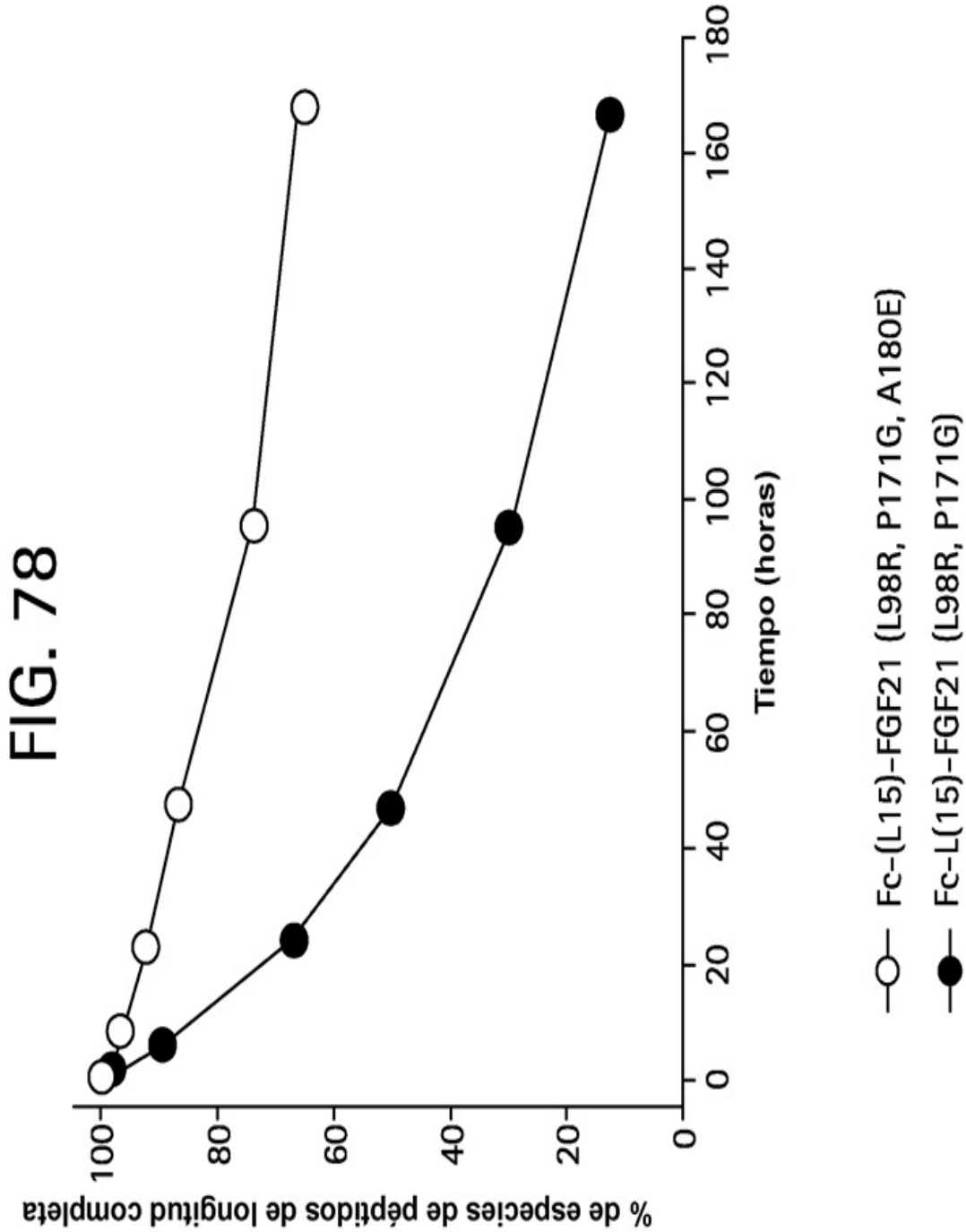

% de especies de péptidos de longitud completa
100
80
60
40
20
0
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
Tiempo (horas)
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E)
Fc-L(15)-FGF21 (L98R, P171G)

FIG. 79

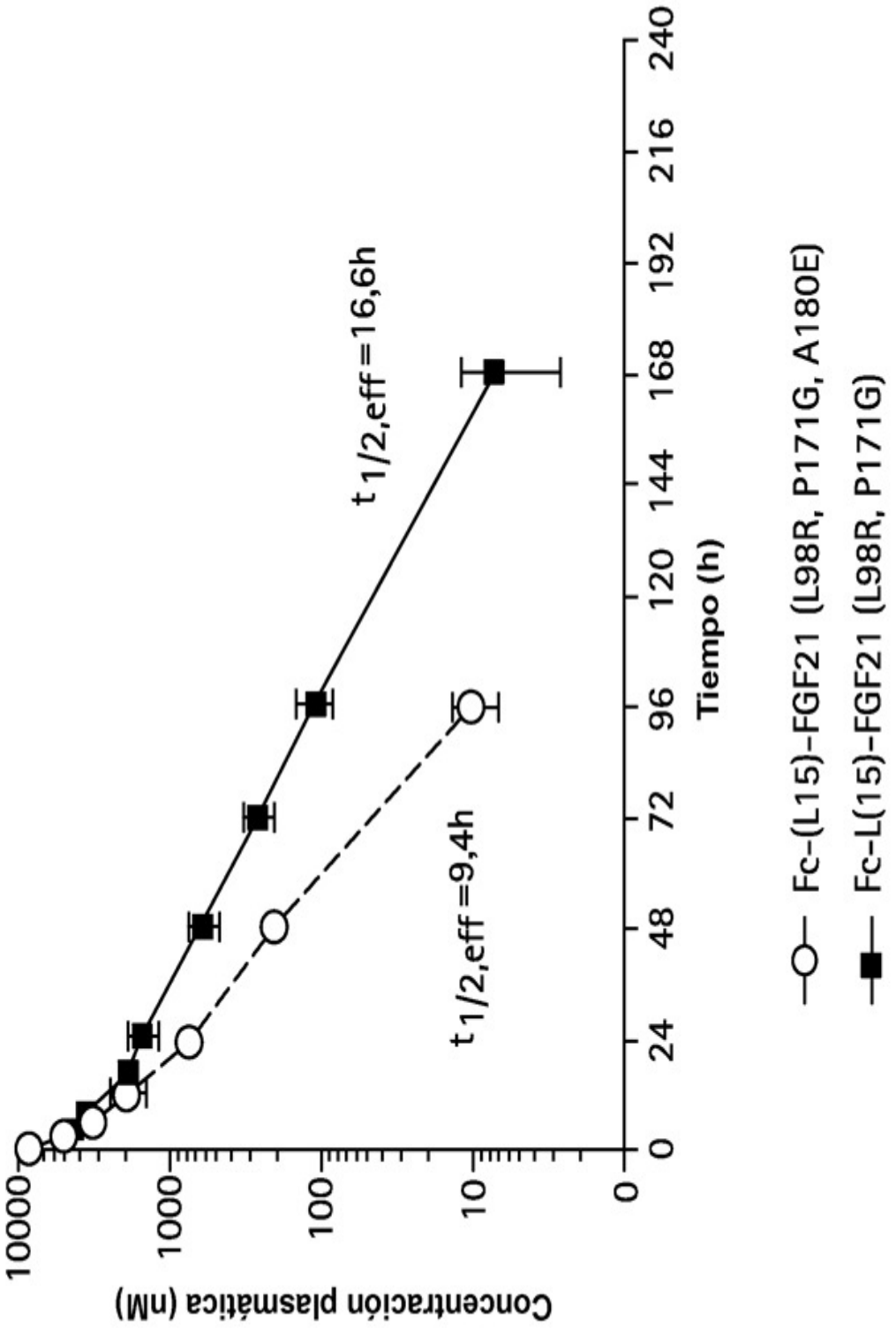
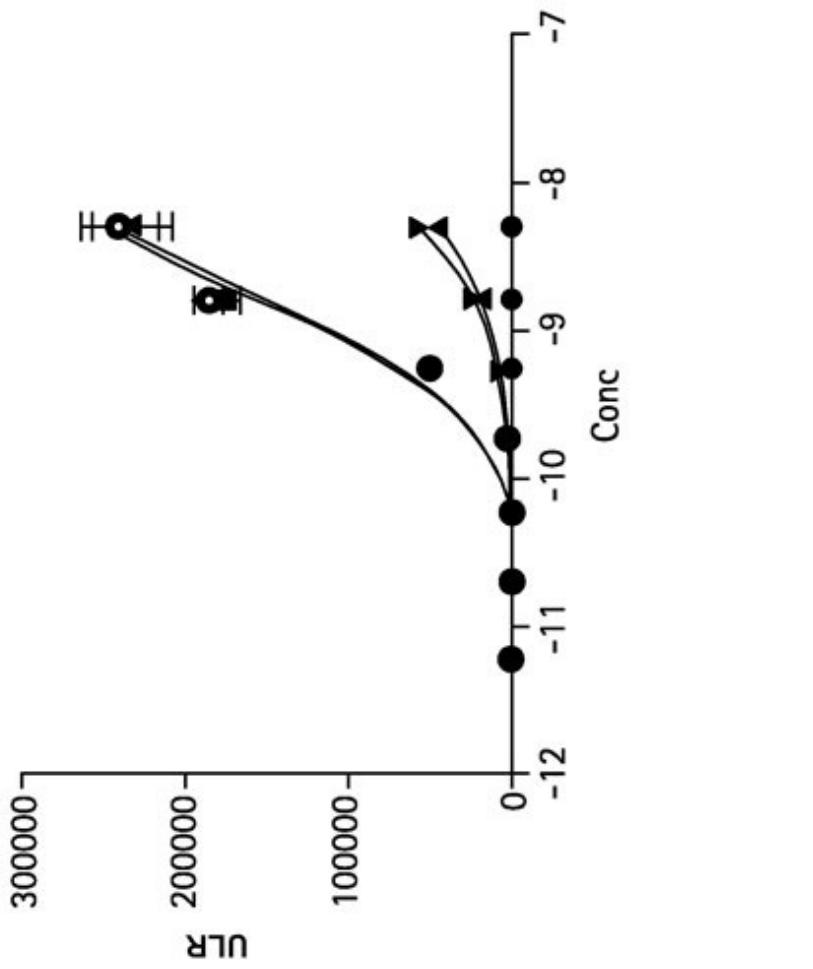

Concentración plasmática (nM)
10000
1000
100
10
0
0
24
48
72
96
120
144
168
192
216
240
Tiempo (h)
t 1/2,eff =16,6h
t 1/2,eff =9,4h
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E)
Fc-L(15)-FGF21 (L98R, P171G)

FIG. 80


Control negativo
FGF21
FGF21 (Y179N, S181T)
FGF21 Y179N
FGF21 P124S
ULR
300000
200000
100000
0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
Conc