

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 641 869**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 38/17</b>	(2006.01)
<b>C07K 14/00</b>	(2006.01)
<b>A61P 3/00</b>	(2006.01)
<b>A61P 3/04</b>	(2006.01)
<b>C07K 14/575</b>	(2006.01)
<b>A61K 38/22</b>	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.09.2011 PCT/US2011/053786**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.04.2012 WO12050930**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.09.2011 E 11833080 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.06.2017 EP 2621519**

54 Título: **Polipéptidos de fusión de leptina-ABD con duración de acción aumentada**

30 Prioridad:

**28.09.2010 US 387402 P**  
**10.12.2010 US 422091 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**14.11.2017**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**GHOSH, SOUMITRA, S.;**  
**ERICKSON, MARY;**  
**LITZINGER, DAVID, C.;**  
**GUO, ZIJIAN y**  
**ROTH, JONATHAN, DAVID**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 641 869 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Polipéptidos de fusión de leptina-ABD con duración de acción aumentada

5 **Referencia cruzada a solicitudes relacionadas**

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

10 **Antecedentes de la invención**

La presente solicitud se refiere a compuestos que tienen una buena duración de la acción, potencia elevada y/o regímenes de dosificación convenientes incluyendo la administración oral, y métodos de uso de los mismos. Se proporcionan en el presente documento polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética que incorporan un dominio de unión a albúmina en combinación con un péptido biológicamente activo. Sin desear quedar ligados a teoría alguna, se cree que debido a que los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética descritos en el presente documento pueden unirse a albúmina, los compuestos pueden quedar capturados (por ejemplo, unidos a albúmina) mientras que en la circulación conducen a una mayor duración de la acción, debido por ejemplo a un aclaramiento y/o degradación renal disminuido. Las enfermedades susceptibles a dicho tratamiento incluyen lipodistrofia, dislipidemia, hiperlipidemia, sobrepeso, obesidad, amenorrea hipotalámica, enfermedad de Alzheimer, deficiencia de leptina, enfermedad de hígado graso, diabetes (incluyendo tipo I y tipo II), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), enfermedad de hígado graso no alcohólica (NAFLD), síndrome metabólico X y enfermedad de Huntington, o sus combinaciones.

25 Sigue habiendo una necesidad de desarrollar polipéptidos útiles en las enfermedades metabólicas, dolencias y trastornos anteriormente descritos. En consecuencia, Es un objetivo de la presente invención proporcionar polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética con vidas útiles extendidas para tratar las anteriores dolencias y métodos para producirlos y utilizarlos.

30 **Breve resumen de la invención**

Se proporcionan compuestos polipeptídicos diseñados mediante ingeniería genética que tienen afinidad de unión por la albúmina y una utilidad terapéutica adicional. Los compuestos son polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética que incluyen un polipéptido de un dominio de unión a albúmina (ABD) capaz de unirse a albúmina y un polipéptido de un dominio de hormona (HD), cuyos polipéptidos HD pueden ser biológicamente activos y pueden estimular una respuesta biológica beneficiosa, en enlace covalente con el ABD. Cualquiera de los polipéptidos ABD o HD descritos en el presente documento pueden unirse covalentemente de forma opcional en el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética a través de un enlazador L, por ejemplo, L1, como se describe en el presente documento. Sin desear quedar ligados a teoría alguna, se cree que debido a que los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética descritos en el presente documento pueden unirse a albúmina, los compuestos pueden quedar capturados en un sujeto conduciendo a una mayor duración de la acción en el sujeto. La invención se define en las reivindicaciones.

45 En un primer aspecto, se proporciona un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética que se describe en el presente documento. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética incluye un polipéptido de un dominio de unión a albúmina (ABD) y el dominio de hormona (HD1). El dominio de hormona incluye un polipéptido que es una leptina, un análogo de una leptina o un fragmento activo de la misma.

50 En otro aspecto, se proporciona un método para tratar una enfermedad o trastorno en un sujeto que necesita tratamiento. El método incluye administrar un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética que se describe en el presente documento al sujeto.

55 En otro aspecto más, se proporciona una composición farmacéutica que incluye un compuesto polipeptídico diseñado mediante ingeniería genética descrito en el presente documento junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

60 En otro aspecto más son polinucleótidos que codifican el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética y sus compuestos intermedios, vectores de expresión que transportan dichos polinucleótidos, células hospedadoras que expresan dichos polinucleótidos, y los medios para su expresión, síntesis, modificación posterior a la traducción y aislamiento. BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

65 Las Figs. 1A-1B representan gráficamente los efectos de una única administración de los polipéptidos quiméricos que se describen en el presente documento sobre la ingesta de alimento y el peso corporal tras la administración a ratas magras como se describe en el Ejemplo 3. Figura 1A; ingesta de alimento. Figura 1B: cambio en el peso corporal (% corregido para el vehículo). Leyenda: Vehículo (en recuadro); Comp. 1 a 2,6 mg/kg (triángulo con la punta hacia arriba); Comp. 2 a 2,7 mg/kg (triángulo con la punta hacia abajo); Comp. 4 a 2,7 mg/kg (rombo);

Comp. C2 a 10 mg/kg (círculo).

Las Figs. 2A-2B representan gráficamente los efectos de una única administración de los polipéptidos quiméricos que se describen en el presente documento sobre la ingesta de alimento y el peso corporal tras la administración a ratas magras como se describe en el Ejemplo 4. Fig. 2A: Ingesta de alimento. Fig. 2B: cambio en el peso corporal (% corregido para el vehículo). Leyenda: Vehículo (en recuadro); Comp. 2 a 0,3 mg/kg (triángulo con la punta hacia arriba); Comp. 2 a 1,0 mg/kg (triángulo con la punta hacia abajo); Comp. 2 a 3,0 mg/kg (rombo).

Las Figs. 3A-3B representan gráficamente los efectos de una única administración de los polipéptidos quiméricos que se describen en el presente documento sobre la ingesta de alimento y el peso corporal tras la administración a ratas magras como se describe en el Ejemplo 5. Fig. 3A: Ingesta de alimento. Fig. 3B: cambio en el peso corporal (% corregido para el vehículo). Leyenda: Vehículo (en recuadro); Comp. C2 a 1,1 mg/kg (círculo); Comp. C2 a 3,3 mg/kg (recuadro); Comp. C2 a 11,1 mg/kg (triángulo con la punta hacia arriba).

Las Figs. 4A-4B representa gráficamente los efectos de una única administración de polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética descritos en el presente documento, y un compuesto del control, sobre la ingesta de alimento y el peso corporal tras la administración a ratas magras como se describe en el Ejemplo 6. Fig. 4A: Ingesta de alimento. Fig. 4B: cambio en el peso corporal (% corregido para el vehículo). Leyenda: Vehículo (en recuadro); Comp. C6 a 2,2 mg/kg (triángulo con la punta hacia abajo).

Fig. 5 representa gráficamente los efectos una administración una vez a la semana de la SEQ ID NO:54 sobre el peso corporal (% del valor inicial) tras la administración a ratas DIO como se describe en el Ejemplo 7. Leyenda: Vehículo (en recuadro); Comp. 2 a 1,3 mg/kg por inyección (triángulo con la punta hacia arriba).

Las Figs. 6A-6B representan gráficamente la cuantificación de los niveles en plasma de la SEQ ID NO:33 (Fig. 6A) y SEQ ID NO:54 (Fig. 6B) tras la administración a ratas DIO, como se describe en el Ejemplo 8.

Fig. 7 representa gráficamente los efectos de una única administración de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética indicados sobre el cambio en el peso corporal (% de vehículo corregido) tras la administración a ratas magras como se describe en el Ejemplo 9.

Fig. 8 representa gráficamente los efectos de una única administración de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética indicados descritos en el presente documento sobre el cambio en el peso corporal (% de vehículo corregido) tras la administración a ratas magras como se describe en el Ejemplo 10.

Las Figs. 9A-9B representan gráficamente los efectos de una única administración de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética indicados descritos en el presente documento sobre la captación de alimento y el cambio en el peso corporal (% de vehículo corregido) tras la administración a ratas como se describe en el Ejemplo 11. Figura 9A; ingesta de alimento. Figura 4B: cambio en el peso corporal (% corregido para el vehículo).

La Figura 10 representa gráficamente los efectos de una única administración de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética indicados descritos en el presente documento sobre la captación de alimento y el cambio en el peso corporal (% de vehículo corregido) tras su administración a ratas magras como se describe en el Ejemplo 12.

Las Figuras 11A a 11B representan gráficamente los efectos de una única administración de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética indicados descritos en el presente documento sobre la ingesta acumulativa de alimento (Figura 11A) y el porcentaje de cambio en el peso corporal (Figuras 11B y 11C) tras la administración a ratas magras como se describe en el Ejemplo 13.

La Fig. 12 representa gráficamente la actividad funcional de la leptina generada por el Compuesto 2 en presencia de albúmina, tal como se describe en el Ejemplo 15.

La Fig. 13 ilustra una concentración prolongada en plasma frente al perfil de tiempo del Compuesto 2 es ratas tras la administración de una inyección subcutánea de acuerdo con el Ejemplo 16.

La Fig. 14 ilustra una concentración prolongada en plasma frente al perfil de tiempo del Compuesto 15 es ratas tras la administración de una inyección subcutánea de acuerdo con el Ejemplo 16.

La Fig. 15 representa gráficamente los efectos de una única administración de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética indicados descritos en el presente documento sobre el cambio en el peso corporal (% de vehículo corregido) tras la administración a ratas magras (

La Fig. 15A) y ratas ZDF (

La Fig. 15B) como se describe en el Ejemplo 17.

La Fig. 16 representa gráficamente los efectos de ahorro de dosis de una administración una vez a la semana del Compuesto 2 sobre el peso corporal (% del valor inicial) tras la administración a ratas magras como se describe en el Ejemplo 18.

La Fig. 17 es una gráfica que representa el efecto sobre el peso corporal de la administración de leptina (125 mg/kg/día) y amilina (1500 mg/kg/día), tanto sola como en combinación, en dos grupos de ratas: un grupo de ratas muy obesas y otro grupo que tenía las calorías restringidas por debajo del intervalo de obesidad moderada.

La Fig. 18A es una gráfica que representa el efecto sobre el peso corporal de la administración del Compuesto 2 (120 mg/kg/día) y las ratas infundidas con amilina (50 mg/kg/día), tanto solo como en combinación durante cuatro semanas.

La Fig. 18B es una gráfica que representa el efecto sobre el peso corporal de la administración del Compuesto 2 (120 nmol/kg) y amilina PEGilada de rata (Des-Lys1-[Lys26(mPEG40K)] -amilina de rata (125 nmol/kg), tanto solo como en combinación durante cuatro semanas.

La Fig. 19 representa gráficamente el efecto sobre la ingesta de alimento (Figura 19A) y el peso corporal (Figura 19B) de la administración del Compuesto 15 (120 nmol/kg) y amilina (50 mg/kg/día), tanto solo como en combinación durante cuatro semanas.

La Fig. 20 es una gráfica que representa el efecto sobre el peso corporal de la administración del Compuesto 15 (120 nmol/kg) y amilina PEGilada de rata (Des-Lys1-[Lys26(mPEG40K)] -amilina de rata (125 nmol/kg), tanto solo como en combinación durante cuatro semanas.

La Fig. 21A representa gráficamente el efecto sobre el peso corporal de la leptina y amilina, tanto solo como en combinación durante cuatro semanas, en ratas moderadamente obesas.

La Fig. 21B representa gráficamente la ausencia de efecto sobre el peso corporal de la administración de leptina y amilina, tanto solo como en combinación durante cuatro semanas, en ratas muy obesas.

La Fig. 21C representa gráficamente el efecto sobre el peso corporal de la administración del Compuesto 2 (120 nmol/kg) y amilina PEGilada de rata (Des-Lys1-[Lys26(mPEG40K)] -amilina de rata (125 nmol/kg), tanto solo como en combinación durante cuatro semanas, en ratas muy obesas.

La Fig. 22 representa gráficamente el efecto sobre el peso corporal de la administración del: (A) Compuesto 15 (120 nmol/kg) o (B) Compuesto 2 (120 nmol/kg) y amilina (50 mg/kg/día), tanto solo como en combinación durante cuatro semanas, en ratas muy obesas.

La Fig. 23 representa gráficamente los efectos de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética indicados descritos en el presente documento sobre la glucosa en sangre tras la administración a ratones T1DM inducidos por STZ como se describe en el Ejemplo 30.

La Fig. 24 representa gráficamente los efectos de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética indicados descritos en el presente documento sobre A1C tras la administración a ratones T1DM inducidos por STZ como se describe en el Ejemplo 30.

La Fig. 25 representa gráficamente los efectos de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética indicados descritos en el presente documento sobre la ingesta de alimentos y el peso corporal tras la administración a ratones T1DM inducidos por STZ como se describe en el Ejemplo 30.

La Fig. 26 representa gráficamente los efectos de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética indicados descritos en el presente documento, con y sin una dosis baja de insulina, sobre glucosa en sangre tras la administración a ratones T1DM inducidos por STZ como se describe en el Ejemplo 30.

La Fig. 27 representa gráficamente los efectos de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética indicados descritos en el presente documento, con y sin una dosis baja de insulina, sobre la hemoglobina A1C tras la administración a ratones T1DM inducidos por STZ como se describe en el Ejemplo 30.

La Fig. 28 representa gráficamente los efectos de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética indicados descritos en el presente documento, con y sin una dosis baja de insulina, sobre la ingesta de alimento (% de vehículo corregido) y cambio en el peso corporal (% de vehículo corregido) tras la administración a ratones T1DM inducidos por STZ como se describe en el Ejemplo 30.

## Descripción detallada de la invención

### I. Definiciones

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

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

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

"Fragmento", en el contexto de los polipéptidos se refiere en el presente documento en el sentido de sustancia química de uso habitual a una porción de un polipéptido. Por ejemplo, un fragmento puede ser el resultado de una deleción en el extremo N o una deleción en el extremo C de uno o más restos de un polipéptido precursor, y/o un fragmento puede ser el resultado de una deleción interna de uno o más restos de un polipéptido precursor. "Fragmento", en el contexto de un anticuerpo se refiere a una porción de un anticuerpo que se puede unir a una molécula biológicamente activa para modular la solubilidad, la distribución en un sujeto, y similares. Por ejemplo, la leptina A200 descrita en el presente documento es un conjugado de un fragmento de anticuerpo Fc con una leptina, como se conoce en la materia. Véanse, por ejemplo, los documentos WO 98/28427 y US2007/002084. El término "precursor", en el contexto de los polipéptidos se refiere, en el sentido de uso habitual, a un polipéptido que sirve como una estructura de referencia antes de la modificación, por ejemplo, inserción, deleción y/o sustitución. El término "conjugado" en el contexto de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética descritos en el presente documento se refiere al enlace covalente entre los polipéptidos del componente, por ejemplo, ABD, HD1 y similares. El término "fusión", en el contexto de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética descritos en el presente documento se refiere al enlace covalente entre los polipéptidos del componente, por ejemplo, ABD, HD1 y similares, mediante cualquiera o ambos grupos amino terminal o carboxi funcional de la estructura peptídica funcional. Los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética se pueden preparar de forma sintética o recombinante. Normalmente, las fusiones se realizan utilizando biotecnología recombinante, sin embargo, se pueden realizar también mediante síntesis química y métodos de conjugación conocidos en la materia.  
30  
35  
40  
45

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

"Identidad", "identidad de secuencia" y similares en el contexto de comparar dos o más ácidos nucleicos o secuencias de polipéptidos, se refiere a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales o tienen un porcentaje especificado de restos de aminoácidos o nucleótidos que son iguales (es decir, aproximadamente un 50 % de identidad, preferentemente 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o una identidad mayor en una región especificada, cuando se compara y alinean para obtener una correspondencia máxima sobre una ventana de comparación o una región designada) como se mide utilizando algoritmos de comparación de secuencias como se conoce en la materia, por ejemplo BLAST o BLAST 2.0. Esta definición incluye secuencias que tienen deleciones y/o adiciones, así como aquellas que tienen sustituciones, así como las que se producen naturalmente, por ejemplo, las variantes polimórficas o alélicas, y las variantes de fabricación humana. En los algoritmos preferidos, se tienen en cuenta los espacios y similares, como se conoce en la materia. Para la comparación de la secuencia, normalmente una secuencia actúa como una secuencia de referencia, con la cual se comparan las secuencias de prueba. Cuando se utiliza un algoritmo de comparación de secuencias, las secuencias de prueba y de referencia se introducen en un ordenador, se designan coordenadas posteriores si es necesario, y se designan los parámetros del programa del algoritmo de secuencias.  
55  
60  
65

Preferentemente, se pueden usar los parámetros preconfigurados del programa, o se pueden designar parámetros alternativos. El algoritmo de comparación de secuencias calcula a continuación el porcentaje de identidades de secuencia de las secuencias de prueba con respecto a la secuencia de referencia, basándose en los parámetros del programa. Se puede llevar a cabo la alineación óptima de las secuencias para comparación, por ejemplo, mediante el algoritmo de homología local de Smith y Waterman, 1981, *Adv. Appl. Math.* 2:482, mediante el algoritmo de alineación de homología de Needleman y Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.* 48:443, mediante la búsqueda del método de similitud de Pearson y Lipman, 1988, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 85:2444, mediante implementaciones informatizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA, y TFASTA del Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.), o mediante alineación manual e inspección visual. Véase, por ejemplo, *Current Protocols in Molecular Biology* (Ausubel et al., eds. suplemento de 1995)). Los ejemplos preferidos de algoritmos que son adecuados para determinar el porcentaje de identidad de la secuencia y la similitud de la secuencia incluyen los algoritmos BLAST y BLAST 2.0, que se describen en Altschul et al., 1977, *Nuci. Acids Res.* 25:3389-3402 y Altschul et al., 1990, *J. Mol. Biol.* 215:403-410. Se usan BLAST y BLAST 2.0, como se conoce de la invención. El software para llevar a cabo los análisis BLAST está públicamente disponible del National Centre for Biotechnology Information. Este algoritmo implica identificar en primer lugar parejas de secuencias de alta puntuación (HSP) identificando palabras cortas de longitud  $W$  en la secuencia de consulta que, o bien se empareja o bien satisface algún valor umbral de valor positivo  $T$  cuando se alinea con una palabra de la misma longitud en la secuencia de la base de datos.  $T$  se denomina el umbral de puntuación de palabras adyacentes (Altschul et al, *Id.*). Estos aciertos iniciales de palabras adyacentes actúan como semillas para iniciar búsquedas para encontrar los HSP más largos que las contienen. Los aciertos de palabras se extienden en ambas direcciones a lo largo de cada secuencia para que se pueda aumentar de forma coherente la puntuación de la alineación acumulativa. Se calculan las puntuaciones acumulativas utilizando, por ejemplo, para las secuencias de nucleótidos, los parámetros  $M$  (puntuación de recompensa para una pareja de restos de emparejamiento; siempre  $>0$ ) y  $N$  (puntuación de penalización para restos emparejados incorrectamente; siempre  $<0$ ). Para las secuencias de aminoácidos, se usa una matriz de puntuación para calcular la puntuación acumulativa. La extensión de los aciertos de palabras en cada dirección se detiene cuando: la puntuación de la alineación acumulativa disminuye en una cantidad  $X$  de su valor máximo conseguido; la puntuación acumulativa llega a un valor de cero o inferior, debido a la acumulación de una o más alineaciones de restos con puntuación negativa; o se alcanza el extremo de cualquier secuencia. Los parámetros  $W$  del algoritmo BLAST,  $T$ , y  $X$  determinan la sensibilidad y la velocidad de la alineación. El programa BLASTN (para secuencias de nucleótidos) utiliza por defecto una longitud de palabra ( $W$ ) de 11, una expectativa ( $E$ ) de 10,  $M=5$ ,  $N=-4$  y una comparación de ambas cepas. Para las secuencias de aminoácidos, el programa BLASTP utiliza por defecto una longitud de palabra de 3, y una expectativa ( $E$ ) de 10, y la matriz de puntuación BLOSUM62 (véase Henikoff y Henikoff, 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10915) alineaciones ( $B$ ) de 50, expectativa ( $E$ ) de 10,  $M=5$ ,  $N=-4$ , y una comparación de ambas hebras.

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

Los términos "péptido" y "polipéptido" en el contexto de los componentes de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética descritos en el presente documento son sinónimos.

## II. Compuestos

En un primer aspecto, se proporcionan compuestos polipeptídicos que incluyen u polipéptido de un dominio de unión a albumina (ABD) y al menos un polipéptido del dominio de hormona (HD1). Las expresiones "dominio de unión a albúmina", "ABD" y similares se refieren a polipéptidos capaces de unirse a albúmina, como se describe en el presente documento. Las expresiones "dominio de hormona", "polipéptido de dominio de hormona" y similares se refieren a un polipéptido capaz de estimular una respuesta biológica en un sujeto. los dominios de hormona ilustrativos incluyen, aunque no de forma limitativa, una leptina, un análogo de una leptina o un fragmento activo de la misma, pero podrían ser un derivado de leptina tal como un derivado PEGilado.

Se encontró sorprendentemente que una leptina, un análogo de leptina, un fragmento activo de leptina, o un derivado de leptina del mismo se pueden fusionar a un dominio de unión a albúmina de afinidad muy alta (ABD) derivado de los dominios de unión a albúmina de las proteínas bacterianas como se describe en el presente documento, reteniendo a la vez suficiente actividad biológica de la leptina y teniendo una duración prolongada de la acción, por ejemplo, de al menos 3 días e incluso 5 días en un roedor, lo que se traduce en al menos una semana de duración o más en un sujeto humano. Esto era sorprendente en parte debido a que dichos péptidos ABD no se ha demostrado extensamente que sean una plataforma robusta como un transportador de proteína terapéutica, al ser relativamente hidrófobas, podrían interactuar adversamente con un péptido terapéutico unido, y no eran capaces de actuar como un transportador para al menos una familia de hormonas peptídicas. Por ejemplo, los compuestos de amilina de rata (por ejemplo, SEQ ID NO:108), cuando se conjugan o fusionan con los ABD descritos en el presente documento, no muestran ninguna actividad a largo plazo o significativa de la actividad in vivo en los mismos modelos de roedores en los que diversas construcciones de polipéptidos de leptina diseñados mediante ingeniería genética de la invención se encontraron que eran activas y con acción a largo plazo.

**Componentes biológicamente activos.** Los componentes de compuestos biológicamente activos contemplados para el uso en los compuestos y métodos descritos en el presente documento incluyen leptinas. Las expresiones "compuesto biológicamente activo" y similares se refieren en el sentido habitual a compuestos, por ejemplo, polipéptidos y similares, que pueden estimular una respuesta biológica.

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

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

40 Cualquier leptina, análogo de leptina, fragmento activo de leptina, o derivado de leptina conocido en la materia puede emplearse para preparar y utilizar los polipéptidos diseñados a través del presente documento. Leptinas representativas, análogos de leptinas, fragmentos activos de leptinas, y derivados de leptinas contemplados para el uso en los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética y los métodos descritos en el presente documento incluyen también lo siguiente:

**Leptinas de murino maduras:**

50 VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHT-Xaa-SVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLA  
VYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCSLPQASGLETLESLGGVLEASGY  
STEVVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGC , en las que Xaa en la posición 28 es Q o está ausente (SEQ ID NO:1).

**Leptina de murino madura forma 1:**

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSAKQRVTGLDFIPGLHPILSLSKMDQTLAVY  
QQVLTSLPSQNVLQIANDLENLRDLLHLLAFSKSCSLPQTSGLQKPESLDGVLEASLYST  
55 EVVALSRLQGSLQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO:143).

**Leptina de murino madura forma 2:**

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTSVSAKQRVTGLDFIPGLHPILSLSKMDQTLAVYQ  
QVLTSLPSQNVLQIANDLENLRDLLHLLAFSKSCSLPQTSGLQKPESLDGVLEASLYSTE  
VVVALSRLQGSLQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO:144).

**Leptinas de murino maduras con metionina en el extremo N:**

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHT-Xaa-SVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLISKMDQTL  
 AVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPQASGLETLES LGGVLEASG  
 YSTEVALSRLQGS LQDMLQQLDLSPGC , en las que Xaa en la posición 29 es Q o está  
 ausente (SEQ ID NO:2)

5 **Leptina de murino madura, forma 1, con metionina en el extremo N:**  
 MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSAKQRVTGLDFIPGLHPILSLSKMDQTLAV  
 YQVLTSLPSQNVLQIANDLENLRDLLHLLAFSKSCSLPQTSGLQKPESLDGVLEASLYS  
 TEVVALSRLQGS LQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO:145).

**Leptina de murino madura, forma 2, con metionina en el extremo N:**  
 MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTSVSAKQRVTGLDFIPGLHPILSLSKMDQTLAVY  
 QQVLTSLPSQNVLQIANDLENLRDLLHLLAFSKSCSLPQTSGLQKPESLDGVLEASLYST  
 EVVALSRLQGS LQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO:146).

10 **Leptina de porcino madura:**  
 VPIWRVQDDTKTLIKTIVTRINDISHMQSVSSKQRVTGLDFIPGLHPVLSLSKMDQTLAIY  
 QQILTSLPSRNVIQISNDLENLRDLLHLLASSKSCPLPQARALETLES LGGVLEASLYSTE  
 VALSRLQ GALQDMLRQLDLSPGC (SEQ ID NO:3).

**Leptina de porcino madura con metionina en el extremo N:**  
 MVPIWRVQDDTKTLIKTIVTRINDISHMQSVSSKQRVTGLDFIPGLHPVLSLSKMDQTLAI  
 YQQILTSLPSRNVIQISNDLENLRDLLHLLASSKSCPLPQARALETLES LGGVLEASLYSTE  
 VVALSRLQ GALQDMLRQLDLSPGC (SEQ ID NO:4).

15 **Leptinas de bovino maduras:**  
 VPICKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHT-Xaa-SVSSKQRVTGLDFIPGLHPVLSLSKMDQTLAI  
 YQQILTSLPSRNVIQISNDLENLRDLLHLLAASKSCPLPQVRALESLESLGWLEASLYST  
 EVVALSRLQGS LQDMLRQLDLSPGC, en las que Xaa en la posición 28 es Q o está ausente (SEQ ID  
 NO:5).

**Leptinas de bovino maduras con metionina en el extremo N:**

25 VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHT-Xaa-SVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLISKMDQTLA  
 VYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPQASGLETLES LGGVLEASGY  
 STEVVALSRLQGS LQDMLQQLDLSPGC, en las que Xaa en la posición 29 es Q o está ausente (SEQ ID  
 NO: 6).

30 **Leptina humana de longitud completa sin procesar (es decir, incluye 21 restos de una secuencia  
 señal en el extremo N):**  
 MHWGTL CGFLWLWPYLFYVQAVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTG  
 LDFIPGLHPILTLISKMDQTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLP  
 WASGLETLDLGGVLEASGY STEVVALSRLQGS LQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO: 7)

35 **Leptinas humanas maduras (con una secuencia señal de 21 aminoácidos en el extremo N  
 eliminada):**  
 VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISH-Xaa-Xaa-SVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLISKMDQT  
 LAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPWASGLETLDLGGVLEAS  
 GYSTEVVALSRLQGS LQDMLWQLDLSPGC, en las que: Xaa en la posición 27 es T o A; y Xaa en la  
 posición 28 es Q o está ausente (SEQ ID NO:8).

40 **Leptinas humanas maduras con metionina en el extremo N:**  
 MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISH-Xaa-Xaa-SVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLISKMDQ  
 TLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPWASGLETLDLGGVLEA SGYSTEVVALSR-

LQGS LQDMLWQLDLSPGC, en las que: Xaa en la posición 28 es T o A; y Xaa en la posición 29 es Q o está ausente (SEQ ID NO:9).

**Leptina de Rhesus madura:**

VPIQKVQSDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQRVTGLDFIPGLHPVLTLSQMDQTLAIYQ  
 QILINLPSRNVIQISNDLENLRDLLHLLAFSKSCHLPLASGLETLES LGDVLEASLYSTE  
 ALSRLQGS LQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:10).

5

**Leptina de Rhesus madura con metionina en el extremo N:**

MVPIQKVQSDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQRVTGLDFIPGLHPVLTLSQMDQTLAI  
 YQQILINLPSRNVIQISNDLENLRDLLHLLAFSKSCHLPLASGLETLES LGDVLEASLYSTE  
 VVALSRLQGS LQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:11).

**Leptina de rata madura:**

VPIHKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSARQRVTGLDFIPGLHPILSLSKMDQTLAVY  
 QQILTSLPSQNVLQIAHDLENLRDLLHLLAFSKSCSLPQTRGLQKPESLDGVLEASLYSTE  
 VVALSRLQGS LQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO:12).

10

**Leptina de rata madura con metionina en el extremo N:**

MVPIHKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSARQRVTGLDFIPGLHPILSLSKMDQTLAV  
 YQQILTSLPSQNVLQIAHDLENLRDLLHLLAFSKSCSLPQTRGLQKPESLDGVLEASLYST  
 EVVALSRLQGS LQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO:13).

**Leptina de Platypus madura:**

Sigue la secuencia de la leptina de platypus madura:

ISIEKIQADTKTLTKTIITRIIQLSTQNGVSTDQRVSGLD FIPGNQQFQNLADMDQTLAVYQ  
 QILSSLPMPDRTQISNDLENLRSLFALLATLKNCPFTRSDGLDTMEIWGGIVEESLYSTE  
 VTLDRLRKSLKNIEKQLDHIQG (SEQ ID NO:14).

15

**Leptina de platypus de longitud completa sin procesar (es decir, incluye 21 restos de una secuencia señal en el extremo N):**

20

Una secuencia de longitud completa de leptina de platypus, que incluye 21 restos de la secuencia señal del extremo como sigue:

MRCILLYGFLCVWQHLYYSHPIEIKIQADTKTLTKTIITRIIQLSTQNGVSTDQRVSGLD F  
 IPGNQQFQNLADMDQTLAVYQQILSSLPMPDRTQISNDLENLRSLFALLATLKNCPFTRS  
 DGLDTMEIWGGIVEESLYSTE VTLDRLRKSLKNIEKQLDHIQG (SEQ ID NO: 15).

25

**Leptina humana madura forma 1:**

QQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPWASGLETLD SLGGVLEASGYST  
 EVVALSRLQGS LQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:16).

30

**Leptina humana madura forma 2:**

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHAQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTSLKMDQTLAVY  
 QQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPWASGLETLD SLGGVLEASGYST  
 EVVALSRLQGS LQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:17).

**Leptina humana madura forma 3:**

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTSLKMDQTLAVYQ  
 QILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPWASGLETLD SLGGVLEASGYSTE  
 VVALSRLQGS LQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:18).

35

**Leptina humana madura forma 4:**

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHASVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVYQ  
 QILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHLPPWASGLETLDLGGVLEASGYSTE  
 VVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:19).

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVY

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

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAV  
 YQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHLPPWASGLETLDLGGVLEASGYS

5 TEVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:20).

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

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHAQS SVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAV  
 YQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHLPPWASGLETLDLGGVLEASGYS

TEVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:21).

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

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVY  
 QQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHLPPWASGLETLDLGGVLEASGYST

10 EVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:22).

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

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHASVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVY  
 QQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHLPPWASGLETLDLGGVLEASGYST

EVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:23).

**Leptina de pinnípedo:**

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQ  
 ILTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEV

15 VALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:24).

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

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQ  
 ILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEVV

20 ALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:25).

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

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQI  
 LTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEVV

ALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:26).

25 **Leptina de pinnípedo marino con metionina en el extremo N:**

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ  
 QILTSLQSRSVVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHSTE

VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:27).

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

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ  
 QILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEV

30 VALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:28).

**Leptina de pinnípedo marino con metionina en el extremo N, y con los aminoácidos 30 y 71-92**

**sustituídos con los aminoácidos 32 y 73-94 (hélice 3) de metreleptina, respectivamente:**

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ  
 QILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKSCPVPRARASDTIKGLGNVLRASVHSTEV  
 VALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:29).

**Leptina A200:**

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

MDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDMLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY  
 VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNBCALPAPIEKTI  
 SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP  
 PVLDSGDGFLLYSLKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKVPKQK  
 QDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTSLKMDQTLAVYQQILTS  
 MPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKCHLPWASGLETDSLGGVLEASGYSTEVALS  
 RLQGSLLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:30)

**Leptina A300:**

Leptina A300 es metreleptina con las sustituciones W101Q yW139Q (<sup>1</sup> Met en el extremo N contada como resto 1):

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTSLKMDQTLAV  
 YQQILTSMPNRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKCHLPWASGLETDSLGGVLEASGYST  
 EVVALSRLQGSLLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:31).

**Leptina A400:**

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

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTSLKMDQTLAV  
 YQQILTSMPNRNVIQICNDLENLRDLLHVLAFAFSKCHLPWASGLETDSLGGVLEASGYST  
 EVVALSRLQGSLLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO: 32); al cual se puede unir un resto de PEG de 20 kilodalton (kDa) mediante el resto de cisteína en la posición 78.

**Leptina A500:**

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

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTSLKMDQTLAV  
 YQQILTSMPNRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKCHLPWASGLETLESLLGGVLEASGYST  
 EVVALSRLQGSLLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:  
 33).

**Variantes de Leptina A100:**

Siguen las variantes de Leptina A100 con las siguientes sustituciones en el resto:

D41E, H98S, W101Q, D109E, G113E, M137I, W139Q y G146E:  
 MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTPJNDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTSLKMDQTLAV  
 YQQILTSMPNRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKCSLPWASGLETLESLLGEVLEASGYST  
 EVVALSRLQGSLLQDMLWQLDLSPEC (SEQ ID NO: 664).

H98S, W101Q, A102T, G113E, M137I, W139Q, y G146E:  
 MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTPJNDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTSLKMDQTLAV  
 YQQILTSMPNRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKCSLPWASGLETDSLGGVLEASGYST  
 EVVALSRLQGSLLQDMLWQLDLSPEC (SEQ ID NO: 665).

5 H98S, W101Q, G113E, M137I, W139Q, y G146E:  
 MVPIQKVQDDTKLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
 YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKSCSLPQASGLETDSLGEVLEASGYST  
 EVVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 666).

10 W101Q, G113E, M137I, W139Q, y G146E:  
 MVPIQKVQDDTKLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
 YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKSCSLPQASGLETDSLGEVLEASGYST  
 EVVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 667).

15 H98S, W101Q, M137I, W139Q, y G146E:  
 MVPIQKVQDDTKLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
 YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKSCSLPQASGLETDSLGGVLEASGYST  
 EVVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 668).

20 W101Q, G113E, M137I, W139Q, L143V, y G146E:  
 MVPIQKVQDDTKLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
 YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKSCSLPQASGLETDSLGEVLEASGYST  
 EVVALSRLQGSLQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO: 669).

H98S, W101Q, A102T, M137I, W139Q, y G146E:  
 MVPIQKVQDDTKLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
 YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKSCSLPQTSGLETDSLGGVLEASGYST  
 EVVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 670).

25 H98S, W101Q, D109E, G113E, y G146E:  
 MVPIQKVQDDTKLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
 YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKSCSLPQASGLETLESLESLGEVLEASGYST  
 EVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPEC (SEQ ID NO: 671).

W101Q, M137I, W139Q, y G146E:  
 MVPIQKVQDDTKLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
 YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKSCSLPQASGLETDSLGGVLEASGYS  
 TEVVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 672).

30 W101Q, M137I, W139Q, L143V, y G146E:  
 MVPIQKVQDDTKLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
 YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKSCSLPQASGLETDSLGGVLEASGYS  
 TEVVALSRLQGSLQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO: 673).

H98S, W101Q, A102T, M137I, W139Q, L143V, y G146E:  
 MVPIQKVQDDTKLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
 YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKSCSLPQTSGLETDSLGGVLEASGYST  
 EVVALSRLQGSLQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO: 674).

35 H98S, W101Q, A102T, G113E, y G146E:  
 MVPIQKVQDDTKLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
 YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKSCSLPQTSGLETDSLGEVLEASGYST  
 EVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPEC (SEQ ID NO: 675).

40 W101Q, G113E, y W139Q:  
 MVPIQKVQDDTKLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
 YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFAFSKSCSLPQASGLETDSLGEVLEASGYST  
 EVVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 676).

W101Q, G113E, W139Q, y G146E:

MVPIQKVQDDTKTIKIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAV  
 YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSKCHLPQASGLETLDLGEVLEASGYST  
 EVVALSRLQGSLLQDMLQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 677).

5 Cualquiera de las leptinas anteriores, análogos de leptina o sus fragmentos activos, así como las leptinas que se describen a continuación, son adecuadas para el uso en los presentes polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética, con o sin un enlazador con el ABD.

10 **Péptidos del dominio de unión a albúmina (ABD).** Los péptidos del dominio de unión a albúmina (ABD) para uso en la invención son aquellos con afinidad comparablemente elevada por la albúmina y derivan de los dominios de unión a albúmina de la proteína G bacteriana de la cepa G148 de Streptococcus. De este modo, Los péptidos ABD contemplados para los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética descritos en el presente documento incluyen aquellos que tienen los motivos de unión a albúmina como se describe en Jonsson et al. (Protein Eng. Design & Selection, 2008, 21:515-527) así como los péptidos ABD descritos en el anterior, y aquellos motivos y péptidos ABD descritos adicionalmente en la solicitud PCT publicada N.º WO2009/016043, así como los análogos de los mismos, particularmente aquellos que tienen al menos un 85 % de identidad de aminoácidos. En una realización, el péptido ABD puede comprender un motivo de unión a albúmina ("ABM") que consiste en la secuencia de aminoácidos:

20 GVSD X<sub>5</sub> YK X<sub>8</sub> X<sub>9</sub> I X<sub>11</sub> X<sub>12</sub> A X<sub>14</sub> TVEGV X<sub>20</sub> AL X<sub>23</sub> X<sub>24</sub> X<sub>25</sub> I (SEQ ID NO:34) en la que, independientemente entre sí,

20 X<sub>5</sub> se selecciona entre Y y F;  
 X<sub>8</sub> se selecciona entre N, R y S;  
 X<sub>9</sub> se selecciona entre V, I, L, M, F e Y;  
 25 X<sub>11</sub> se selecciona entre N, S, E y D;  
 X<sub>12</sub> se selecciona entre R, K y N;  
 X<sub>14</sub> se selecciona entre K y R;  
 X<sub>20</sub> se selecciona entre D, N, Q, E, H, S, R y K;  
 X<sub>23</sub> se selecciona entre K, I y T;  
 X<sub>24</sub> se selecciona entre A, S, T, G, H, L y D; y  
 30 X<sub>25</sub> se selecciona entre H, E y D.

35 En determinadas realizaciones, X<sub>5</sub> es Y. En determinadas realizaciones, X<sub>8</sub> es N. En determinadas realizaciones, X<sub>23</sub> es T. En determinadas realizaciones, X<sub>23</sub> es I. En determinadas realizaciones, X<sub>24</sub> es S. En determinadas realizaciones, X<sub>24</sub> es L. En determinadas realizaciones, X<sub>25</sub> es E. En determinadas realizaciones, X<sub>25</sub> es H. En determinadas realizaciones, independientemente entre sí, X<sub>5</sub> es Y, y/o X<sub>8</sub> es N, y/o X<sub>23</sub> es T o I, y/o X<sub>24</sub> es S o L, y/o X<sub>25</sub> es E. En determinadas realizaciones, el motivo de unión a albúmina ("ABM") es GVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTLHI (SEQ ID NO:114). En determinadas realizaciones, el motivo de unión a albúmina ("ABM") es GVSDYYKNLINKAKTVEGVEALISEI (SEQ ID NO:115).

40 Preferentemente el péptido ABD se une a la albúmina con un valor K de la interacción que está próximo a  $1 \times 10^{-6}$  M, e incluso más preferentemente próximo a  $1 \times 10^{-9}$  M (afinidad aún más estrecha). Más preferentemente, el valor K de la interacción que está próximo a  $1 \times 10^{-10}$  M, incluso más preferentemente está próximo a  $1 \times 10^{-11}$  M, incluso aún más preferentemente está próximo a  $1 \times 10^{-12}$  M, e incluso adicionalmente está próximo a  $1 \times 10^{-13}$  M. Por ejemplo, un valor K<sub>D</sub> de  $1 \times 10^{-14}$  M es un valor K de la interacción que está próximo a  $1 \times 10^{-13}$  M. Los valores K se pueden determinar como se describe en la solicitud PCT publicada N.º WO 2009/016043, preferentemente para la albúmina sérica humana. En una realización, se contempla el anterior, se contempla el anterior género con la condición de que la secuencia de aminoácidos no sea GVSDYYKNLINAKTVEGVKALIDEI (SEQ ID NO:35).

50 Como se demuestra en el presente documento y en las referencias citadas, la capacidad de unión a la albúmina del péptido ABD puede retenerse a pesar de los cambios de aminoácidos siempre que dichos cambios retengan suficiente estructura terciaria del péptido ABD. Dichos cambios incluyen, por ejemplo, una sustitución donde un resto de aminoácido que pertenece a un determinado agrupamiento funcional de restos de aminoácidos (por ejemplo, hidrófobos, hidrófilos, polares, etc.) se intercambia por otro resto de aminoácido del mismo grupo funcional. En consecuencia, en una de las mencionadas realizaciones del péptido ABD, el motivo X<sub>5</sub> es Y. En una realización del ABD X<sub>8</sub> se selecciona entre N y R, y puede ser en concreto N. En una realización X<sub>9</sub> es L. En una realización X<sub>11</sub> se selecciona entre N y S, y puede ser en concreto N. En una realización X<sub>12</sub> se selecciona entre R y K, tal como X<sub>12</sub> siendo R o X<sub>12</sub> siendo K. En una realización X<sub>14</sub> es K. En una realización X<sub>20</sub> se selecciona entre D, N, Q, E, H, S y R, y puede ser en concreto E. En una realización X<sub>23</sub> se selecciona entre K e I, y puede ser en concreto K. En una realización X<sub>24</sub> se selecciona entre A, S, T, G, H y L. En una realización más específica X<sub>24</sub> es L. En una realización incluso más específica "X<sub>23</sub> X<sub>24</sub>" es KL. En otra realización incluso más específica "X<sub>23</sub> X<sub>24</sub>" es TL. En una realización X<sub>24</sub> se selecciona entre A, S, T, G y H. En una realización más específica X<sub>24</sub> se selecciona entre A, S, T, G y H y X<sub>23</sub> es I. En una realización X<sub>25</sub> es H.

Las secuencias de motivos de unión a albúmina individuales comprendidas en la fórmula anterior incluyen aquellas presentadas como las SEQ ID NOs:1-257 en la solicitud PCT publicada N.º WO 2009/016043. En determinadas realizaciones del polipéptido de unión a albúmina, el motivo de unión a albúmina consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada entre la SEQ ID NO: 1-257. En una realización más específica de este aspecto de la invención, la secuencia motivo se selecciona entre la SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 155, SEQ ID NO: 239, SEQ ID NO: 240, SEQ ID NO: 241, SEQ ID NO: 242, SEQ ID NO: 243, SEQ ID NO: 244 y SEQ ID NO: 245 de la solicitud PCT publicada N.º WO 2009/016043. En realizaciones aún más específicas de este aspecto de la invención, la secuencia motivo se selecciona entre la SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 53 y SEQ ID NO: 239 de la solicitud PCT publicada N.º WO 2009/016043. Los polipéptidos de unión a albúmina que contienen motivos de unión a albúmina, y de este modo, adecuados para la conjugación o fusión a un dominio de hormona, como se describe en el presente documento, se describen adicionalmente en el presente documento y a continuación y se ilustran en la Tabla 1 y los Ejemplos. No están ligados a teoría alguna pero que cree que el motivo de unión a albúmina puede formar parte al dominio de proteínas de un paquete de tres hélices. Por ejemplo, el motivo puede constituir o formar parte esencialmente de dos hélices alfa con un bucle de interconexión, comprendido en el mencionado dominio de proteínas de un paquete de tres hélices. En consecuencia, en realizaciones concretas de la invención, dicho dominio de proteínas de un paquete de tres hélices se selecciona entre el grupo que consiste en dominios de tres hélices de una proteína G receptora bacteriana de la cepa G148 de *Streptococcus*. En diferentes variantes de esta realización, el dominio de proteínas del paquete de tres hélices del cual el motivo forma una parte se selecciona entre el grupo que consiste en el dominio GA1, dominio GA2 y dominio GA3 de la proteína G de la cepa G148 de *Streptococcus*, en concreto, el dominio GA3.

En realizaciones de la presente invención en las que el motivo "forma parte de un dominio de proteínas de un paquete de tres hélices", se entiende que esto significa que la secuencia del motivo de unión a albúmina está "insertada" en o "injertada" sobre o "fusionada" a la secuencia del dominio del paquete de tres hélices que se produce naturalmente (o que es original de otra forma), de tal manera que el motivo sustituye un motivo estructural similar en el dominio original. Por ejemplo, y sin pretender quedar vinculados a teoría alguna, se piensa que el motivo constituye dos de las tres hélices de un paquete de tres hélices, y puede sustituir de esta forma un motivo de dos hélices comprendido en cualquier paquete de tres hélices. La sustitución de dos hélices del dominio del paquete de tres hélices por las hélices de los dos motivos divulgada en el presente documento se lleva a cabo de tal manera que no afecte la estructura básica del polipéptido. Es decir, el plegamiento global de la estructura principal del polipéptido de acuerdo con esta realización de la invención será sustancialmente el mismo que el del dominio de proteínas del paquete de tres hélices del cual este forma parte, por ejemplo, teniendo los mismos elementos de la estructura secundaria en el mismo orden, etc. De esta manera, un motivo útil para los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética en el presente documento puede formar parte de un dominio de un paquete de tres hélices si el polipéptido de acuerdo con esta realización tiene el mismo pliegue que el dominio original, implicando que las propiedades estructurales básicas están compartidas, aquellas propiedades, por ejemplo, resultantes en espectros de CD similares.

En consecuencia, en una realización, el polipéptido del dominio de unión a albúmina es un dominio de proteínas del paquete de tres hélices, que comprende el motivo de unión a albúmina que se ha definido anteriormente y las secuencias adicionales que componen el resto de la configuración de tres hélices. Tal polipéptido del dominio de unión a albúmina se puede fusionar a una leptina, un análogo de leptina, un fragmento activo de leptina, o un derivado de leptina del mismo para crear los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética que se describen en el presente documento. Un polipéptido del dominio de unión a albúmina adecuado para la conjugación o fusión a una leptina, un análogo de leptina, un fragmento activo de leptina, o un derivado de leptina del mismo puede comprender la secuencia de aminoácidos:

LAEAK X<sub>a</sub> X<sub>b</sub> A X<sub>c</sub> X<sub>d</sub> EL X<sub>e</sub> KY -[ABM]- LAALP (SEQ ID NO:36)  
 en la que

[ABM] es un motivo de unión a albúmina como se ha definido anteriormente, e,  
 independientemente entre sí,  
 X<sub>a</sub> se selecciona entre V y E;  
 X<sub>b</sub> se selecciona entre L, E y D;  
 X<sub>c</sub> se selecciona entre N, L e I;  
 X<sub>d</sub> se selecciona entre R y K; y  
 X<sub>e</sub> se selecciona entre D y K.

En determinadas realizaciones, X<sub>a</sub> es E. En determinadas realizaciones X<sub>b</sub> es D. En determinadas realizaciones, X<sub>c</sub> es I. En determinadas realizaciones, X<sub>d</sub> es K. En determinadas realizaciones, X<sub>a</sub> independientemente es E, y/o independientemente X<sub>b</sub> es D, y/o independientemente X<sub>c</sub> es I, y/o independientemente X<sub>d</sub> es K. En determinadas realizaciones, la leucina en la posición 45 está presente o ausente. En determinadas realizaciones, el polipéptido del dominio de unión a albúmina es LAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTHILAALP (SEQ ID NO: 50). En determinadas realizaciones, el polipéptido del dominio de unión a albúmina es LAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALISEILAALP

(SEQ ID NO:51).

En una realización adicional, El ABD comprende uno o más aminoácidos en el extremo N que protegen la hélice, y en una realización adicional, el aminoácido que protege la hélice puede ser una serina, o puede ser glicina-serina. De acuerdo con cada secuencia del dominio de unión a albúmina divulgada en el presente documento, incluyendo aquellas en las figuras y el listado de secuencias, contempladas también específicamente para todos los aspectos que se divulgan en el presente documento en el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética, son dominios de unión a albúmina, sus secuencias Ser-ABD, Gly-Ser-ABD, Gly-ABD, Ala-ABD y sus secuencias des-C-terminal-prolina.

Debido a la presencia de un motivo de unión a albúmina, el péptido ABD se une a la albúmina con un valor K de la interacción que está próximo a  $1 \times 10^{-6}$  M e incluso más preferentemente, próximo a  $1 \times 10^{-9}$  M (afinidad aún más estrecha). Más preferentemente, el valor K de la interacción que está próximo a  $1 \times 10^{-10}$  M, incluso más preferentemente está próximo a  $1 \times 10^{-11}$  M, incluso aún más preferentemente está próximo a  $1 \times 10^{-12}$  M, e incluso adicionalmente está próximo a  $1 \times 10^{-13}$  M.

En una realización de este polipéptido de unión a albúmina  $X_a$  es V. En una realización de este polipéptido  $X_b$  es L. En una realización de este polipéptido  $X_c$  es N. En una realización de este polipéptido  $X_d$  es R. En una realización de este polipéptido  $X_e$  es D.

Las secuencias de los polipéptidos del dominio de unión a albúmina individuales adecuadas para la fusión con los péptidos activos del dominio de hormona que se describen en el presente documento se presentan en Jonsson et al. (Id.) y las SEQ ID Nos: 258-514 en la solicitud PCT publicada N.º WO 2009/016043. En la Tabla 1 siguiente se divulgan los compuestos seleccionados. Abarcado también por la presente invención está un polipéptido de unión a albúmina que tiene una secuencia de aminoácidos con un 85 % o más de identidad con una secuencia seleccionada entre las SEQ ID NOS:258-514. En realizaciones concretas, la secuencia del polipéptido de unión a albúmina se selecciona entre la SEQ ID NO: 259, SEQ ID NO: 260, SEQ ID NO: 266, SEQ ID NO: 272, SEQ ID NO: 282, SEQ ID NO: 284, SEQ ID NO: 303, SEQ ID NO: 306, SEQ ID NO: 310, SEQ ID NO: 311, SEQ ID NO: 312, SEQ ID NO: 412, SEQ ID NO: 496, SEQ ID NO: 497, SEQ ID NO: 498, SEQ ID NO: 499, SEQ ID NO: 500, SEQ ID NO: 501 y SEQ ID NO: 502 en la solicitud PCT publicada N.º WO 2009/016043, y las secuencias que tienen un 85 % o más de identidad con la anterior. En otras realizaciones adicionales, la secuencia del polipéptido de unión a albúmina se selecciona entre la SEQ ID NO: 260, SEQ ID NO: 270, SEQ ID NO: 272, SEQ ID NO: 291, SEQ ID NO: 294, SEQ ID NO: 298, SEQ ID NO: 299, SEQ ID NO: 300, SEQ ID NO: 400, SEQ ID NO: 484, SEQ ID NO: 485, SEQ ID NO: 486, SEQ ID NO: 487, SEQ ID NO: 488, SEQ ID NO: 489 y SEQ ID NO: 490 en la solicitud PCT publicada N.º WO 2009/016043, y las secuencias que tienen un 85 % o más de identidad con la anterior. En otras realizaciones adicionales, la secuencia del polipéptido de unión a albúmina se selecciona entre la SEQ ID NO: 260, SEQ ID NO: 310, SEQ ID NO: 496, y la SEQ ID NO: 511 en la solicitud PCT publicada N.º WO 2009/016043 y las secuencias que tienen un 85 % o más de identidad con la anterior.

En una realización, el polipéptido de unión a albúmina comprende además uno o más restos de aminoácidos adicionales situados en el extremo N y/o el extremo C de la secuencia definida en la SEQ ID NO:36. Estos restos de aminoácidos adicionales pueden jugar un papel en la potenciación de la unión de la albúmina por el polipéptido, y mejorar la estabilidad conformacional del dominio de unión a albúmina plegado, pero pueden servir igualmente a otros fines, relacionados por ejemplo con uno o más de producción, purificación, estabilización *in vivo* o *in vitro*, acoplamiento, marcado o detección del polipéptido, así como cualquier combinación de los mismos. Dichos restos de aminoácidos adicionales pueden comprender uno o más resto(s) de aminoácidos añadidos a fines de acoplamiento químico, por ejemplo, a un HD1.

Los aminoácidos que preceden o siguen directamente a la hélice alfa en el extremo N o C de la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:36 en la pueden de este modo afectar en una realización la estabilidad conformacional. Un ejemplo de un resto de aminoácido que puede contribuir a una estabilidad conformacional mejorada en un resto de serina situado en el extremo N de la SEQ ID NO:36 como se ha definido anteriormente. El resto de serina en el extremo N puede, en algunos casos formar una secuencia convencional que protege S-X-X-E, implicando la unión al hidrógeno entre el oxígeno gamma de la cadena lateral de serina y la estructura principal del polipéptido NH del resto de ácido glutámico. Este extremo N protegido puede contribuir a la estabilización de la primera hélice alfa del dominio de tres hélices que constituye el polipéptido de unión a albúmina de acuerdo con el primer aspecto de la divulgación.

De esta manera, en una realización, los aminoácidos convencionales comprenden al menos un resto de serina en el extremo N del polipéptido. La secuencia de aminoácidos está, en otras palabras, precedida por uno o más resto(s) de serina. En otra realización del polipéptido de unión a albúmina, los aminoácidos adicionales comprenden un resto de glicina en el extremo N del polipéptido. Se entiende que la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:36 puede estar precedida por uno, dos, tres, cuatro o cualquier número adecuado de restos de aminoácidos. De esta manera, la secuencia de aminoácidos puede estar precedida por un único resto de serina, un único resto de glicina o una combinación de los dos, tales como una combinación de glicina-serina (GS) o una combinación de glicina-serina-serina (GSS). En otra realización adicional, los restos de aminoácidos adicionales comprenden un ácido glutámico

en el extremo N del polipéptido como se define por la secuencia de SEQ ID NO:36.

Las especies de ABD ilustrativas incluyen, aunque no de forma limitativa, los compuestos que se muestran en la Tabla 1 siguiente y en los Ejemplos. Véase también la solicitud PCT publicada N.º WO 2009/016043. Un péptido ABD útil en los compuestos, métodos y composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento puede ser un fragmento o análogo de un péptido ABD divulgado en el presente documento o conocido en la materia siempre que contenga un motivo de unión a albúmina con la afinidad descrita en el presente documento.

**Tabla 1. Péptidos ABD seleccionado**

Secuencia del péptido ABD	SEQ ID NO:
LAEAKVLANRELDKYGVSDYYKNLINNAKTVEGVKALIDEILAALP	37
LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKSYINRAKTVEGVHTLIGHILAALP	38
LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVNALTHHILAALP	39
LAEAKVLANRELDKYGVSDYYKNLINRARTVEGVHALIDHILAALP	40
LAEAKVLANRELDKYGVSDYYKNIINRAKTVEGVRALKLHILAALP	41
LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKNLINRAKTVEGVSSLKGHILAALP	42
LAEAKVLANRELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTLHILAALP	43
LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKNLINRAKTVEGVDALIAHILAALP	44
LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKSLINRAKTVEGVDALTSHILAALP	45
LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKNLINRAKTVEGVNSLTSHILAALP	46
LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKNVINKAKTVEGVEALIADILAALP	47
LAEAKVLANRELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVQALIAHILAALP	48
LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALKLHILAALP	49
LAEAKEDAIELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTLHILAALP	50
LAEAKEDAIELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALISEILAALP	51
LAEAKEDAIELDKYGVSDYYKRLISKAKTVEGVKALISEILAALP	52

10 **Unión a albúmina.** La albúmina sérica es la proteína más abundante en sueros de mamíferos (40 g/l; aproximadamente 0,7 mM en seres humanos) donde se une a varias moléculas que incluye, aunque no de forma limitativa, lípidos y bilirrubina (Peters T, 1985, *Advances in Protein Chemistry* 37:161). Se ha observado que la semivida de la albúmina sérica es directamente proporcional al tamaño del animal, donde por ejemplo, la albúmina sérica humana (HSA) tiene una semivida de 19 días y la albúmina sérica de conejo tiene una semivida de aproximadamente 5 días (McCurdy TR et al., *J. Lab. Clin. Med.* 143:115,2004). La albúmina sérica humana está ampliamente distribuida a través del cuerpo, en particular en los compartimentos intestinal y sanguíneo, donde está principalmente implicada en el mantenimiento de la osmolaridad. Estructuralmente, las albúminas son proteínas monocatenarias que comprenden tres dominios homólogos y totalizan 584 o 585 aminoácidos (Dugaiczky L et al., 1982, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79:71). Las albúminas contienen 17 puentes disulfuro y un único reactivo tiol, C34, pero carecen de restos de hidratos de carbono unidos a N y unidos a O (Peters, 1985, *Id.*; Nicholson JP et al., 2000, *Br J Anaesth* 85:599). La ausencia de glicosilación simplifica la expresión recombinante de la albúmina. Esta propiedad de la albúmina, junto con el hecho de que su estructura tridimensional es conocida (véase, por ejemplo, He XM & Carter DC, 1992, *Nature* 358:209), ha hecho de esta un atractivo candidato para el uso en proteínas de fusión recombinantes. Dichas proteínas de fusión combinan generalmente una proteína terapéutica (que se aclararía rápidamente del cuerpo tras la administración de la proteína per se) y una proteína plasmática (que presenta un aclaramiento lento natural) en una única cadena polipeptídica. Véase, por ejemplo, Sheffield WP, 2001, *Curr. Drug Targets Cardiovasc. Haematol. Discord.* 1:1). Dichas proteínas pueden proporcionar beneficios clínicos al requerir inyecciones menos frecuentes a mayores niveles de proteína terapéutica in vivo. Sin embargo, los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética en el presente documento no están conjugados a la albúmina, sino que a su vez contienen motivos que permiten la unión no covalente a la albúmina.

15 **Realizaciones adicionales.** Se entiende que se contempla también incluir en cada uno de los polipéptidos divulgados en el presente documento (opcionalmente) una metionina en el extremo N en marco con el primer aminoácido de los mismos que sea de origen natural. Por ejemplo, metreleptina (leptina A100) consiste en leptina madura humana a la que se ha añadido una metionina en el extremo N, como se divulga en la SEQ ID NO:20. De manera similar, se puede incluir un resto metionina en el extremo N de cualquiera de las secuencias y Fórmulas de

aminoácidos divulgadas a través del presente documento. se entiende además que donde aparece una Gly en el extremo C en una secuencia de polipéptido diseñada mediante ingeniería genética que se muestra en el presente documento, el resto puede perderse durante la amidación posterior.

5 En algunas realizaciones, una leptina, un análogo de leptina, un fragmento activo de leptina, o un derivado de leptina puede tener al menos un 50 %, por ejemplo 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % o incluso más, de identidad de secuencia con respecto a una leptina precursora. En algunas realizaciones, la leptina precursora es una leptina que se muestra en la SEQ ID NO:1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145, o la SEQ ID NO: 146. En consecuencia, en algunas realizaciones, una leptina, un análogo de leptina, un fragmento activo de leptina, o un derivado de leptina puede tener al menos un 50 %, por ejemplo 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % o incluso más, de identidad de secuencia con respecto a cualquier leptina seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, y la SEQ ID NO: 23. En algunas realizaciones, una leptina, un análogo de leptina, un fragmento activo de leptina, o un derivado de leptina puede tener al menos un 50 %, por ejemplo 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % o incluso más, de identidad de secuencia con respecto a la leptina que se muestra en la SEQ ID NO: 20. En algunas realizaciones, una leptina, un análogo de leptina, un fragmento activo de leptina, o un derivado de leptina puede tener al menos un 50 %, por ejemplo 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % o incluso más, de identidad de secuencia con respecto a cualquier leptina seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, o la SEQ ID NO: 29. En algunas realizaciones, un análogo de leptina puede tener al menos un 90 % de identidad de secuencia con respecto a la leptina que se muestra en la SEQ ID NO:20. En algunas realizaciones, un análogo de leptina puede tener al menos un 50 % de identidad de secuencia con respecto a la leptina que se muestra en la SEQ ID NO:1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145, o la SEQ ID NO: 146. En algunas realizaciones, un análogo de leptina puede tener al menos un 90 % de identidad de secuencia con respecto a la leptina que se muestra en la SEQ ID NO:1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145, o la SEQ ID NO: 146. En algunas realizaciones, un análogo de leptina puede tener al menos un 50 % de identidad de secuencia con respecto a la leptina que se muestra en la SEQ ID NO:14 o SEQ ID NO:15. En algunas realizaciones, un análogo de leptina puede tener al menos un 90 % de identidad de secuencia con respecto a la leptina que se muestra en la SEQ ID NO:14 o SEQ ID NO:15. En algunas realizaciones, un análogo de leptina puede tener al menos un 50 % de identidad de secuencia con respecto a la leptina que se muestra en la SEQ ID NO:32. En algunas realizaciones, un análogo de leptina puede tener al menos un 90 % de identidad de secuencia con respecto a la leptina que se muestra en la SEQ ID NO:32. En algunas realizaciones, un análogo de leptina puede tener al menos un 50 % de identidad de secuencia con respecto a la leptina que se muestra en la SEQ ID NO:33. En algunas realizaciones, un análogo de leptina puede tener al menos un 90 % de identidad de secuencia con respecto a la leptina que se muestra en la SEQ ID NO:33. En algunas realizaciones, un análogo de leptina puede tener al menos un 50 % de identidad de secuencia con respecto a la leptina que se muestra en la SEQ ID NO:10 o SEQ ID NO:11. En algunas realizaciones, un análogo de leptina puede tener al menos un 90 % de identidad de secuencia con respecto a la leptina que se muestra en la SEQ ID NO:10 o SEQ ID NO:11. En algunas realizaciones, un análogo de leptina puede tener al menos un 50 % de identidad de secuencia con respecto a la leptina que se muestra en la SEQ ID NO:12 o SEQ ID NO:13. En algunas realizaciones, un análogo de leptina puede tener al menos un 90 % de identidad de secuencia con respecto a la leptina que se muestra en la SEQ ID NO:12 o SEQ ID NO:13. Además, se pueden diseñar leptinas, prepararse, y utilizarse de acuerdo con la divulgación en que 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o incluso 21 aminoácidos de una leptina seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145, y la SEQ ID NO: 146; se sustituye(n) con otro aminoácido, tal como un aminoácido conservativo o un aminoácido no conservativo, o se altera(n) de otra manera. Como es de uso habitual en la materia, el término "conservativo", en el contexto de las sustituciones de aminoácidos se refiere a la sustitución que mantiene las propiedades del tipo de carga (por ejemplo, aniónica, catiónica, neutra, polar y similar), hidrofobicidad o hidrofiliidad, volumétrica (por ejemplo, contactos de tipo van der Waals y similares), y/o funcionalidad (por ejemplo, hidroxilo, amina, sulfhidrilo y similar). El término "no conservativo" se refiere a una sustitución de aminoácido que no es conservativa.

Además, como se entiende en la materia, por ejemplo, las leptinas de murino, leptinas de rata, leptinas de bovino, leptinas de porcino, y leptinas de mono rhesus, tales como las divulgadas en el presente documento, son cada una de ellas sustancialmente homólogas a las leptinas humanas; en particular, las formas maduras de estas leptinas son sustancialmente homólogas a las leptinas maduras, y además, particularmente próximas a la porción del extremo N de la proteína. Se pueden preparar análogos de dichas leptinas, tales como la forma 1 de la leptina humana madura

(SEQ ID NO:16) y metreleptina (SEQ ID NO:20), tal como sustituyendo, o alterando de otra forma los restos de aminoácidos de una o más posiciones en dichas secuencias donde se observan divergencias en una leptina madura de ratón, rata, bovino, porcino, o leptinas de mono rhesus. Por ejemplo, las leptinas humanas maduras (por ejemplo, SEQ ID NO:20) estimulan las respuestas biológicas en, por ejemplo, ratones, rata, y mono). Véanse, por ejemplo, los documentos WO 98/28427, WO 2009/064298, US2007/0020284, US2008/0207512, y Murakami et al., 1995, Biochem. Biophys. Res. Comm. 209: 944-952. Como las leptinas maduras humanas tienen actividad biológica en, por ejemplo, dichas especies pueden diseñarse y prepararse análogos de leptinas en los que uno o más aminoácidos de las posiciones que son divergentes en la(s) correspondiente(s) posición(ones) de una leptina procedente de una o más de dichas especies se sustituyen por aminoácido(s) de dichas posiciones divergentes correspondientes.

Por ejemplo, utilizando una proteína leptina madura humana de acuerdo con la SEQ ID NO:16 en la que el primer aminoácido es valina y el aminoácido en la posición 146 es cisteína, se puede sustituir con otro aminoácido uno o más de los aminoácidos en las posiciones 32, 35, 50, 64, 68, 71, 74, 77, 89, 97, 100, 101, 105, 106, 107, 108, 111, 118, 136, 138, 142, y 145 con los correspondientes aminoácido(s) que se encuentran en las correspondientes posición(ones) de la SEQ ID NO:143 para diseñar, preparar, y utilizar los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética de acuerdo con la invención. Además, se puede sustituir también otro aminoácido, tal como un aminoácido conservativo o un aminoácido no conservativo, en una o más de las posiciones 32, 35, 50, 64, 68, 71, 74, 77, 89, 97, 100, 101, 105, 106, 107, 108, 111, 118, 136, 138, 142, y 145 de, por ejemplo, SEQ ID NO:16 a fin de diseñar, preparar, y utilizar los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética de acuerdo con la invención.

Se pueden preparar leptinas adicionales basándose en la secuencia de la proteína leptina de rata madura (SEQ ID NO:12). Véanse, por ejemplo, WO 98/28427, US2007/0020284, y Murakami et al., 1995, *Id.* La leptina de rata madura difiere de la forma 1 de la leptina humana madura (SEQ ID NO:16) en las siguientes posiciones: 4, 32, 33, 35, 50, 68, 71, 74, 77, 78, 89, 97, 100, 101, 102, 105, 106, 107, 108, 111, 118, 136, 138 y 145. En consecuencia, en una o más de dichas posiciones en la SEQ ID NO:16, se puede sustituir el aminoácido que se encuentra en la(s) posición(ones) correspondientes de la leptina de rata madura (SEQ ID NO:12) para diseñar, preparar, y utilizar los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética de acuerdo con la invención. Además, se puede sustituir también otro aminoácido, tal como un aminoácido conservativo o un aminoácido no conservativo, en una o más de las posiciones 4, 32, 33, 35, 50, 68, 71, 74, 77, 78, 89, 97, 100, 101, 102, 105, 106, 107, 108, 111, 118, 136, 138 y 145 de, por ejemplo, SEQ ID NO: 16, a fin de diseñar, preparar, y utilizar los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética de acuerdo con la invención.

Las posiciones entre la leptina de rata madura (SEQ ID NO:12) y la forma 1 de la leptina de murino madura (SEQ ID NO:143) que divergen de la forma 1 de la leptina humana madura (SEQ ID NO:16) son: 4, 32, 33, 35, 50, 64, 68, 71, 74, 77, 78, 89, 97, 100, 102, 105, 106, 107, 108, 111, 118, 136, 138, 142, y 145. En consecuencia, en una o más de dichas posiciones en la SEQ ID NO:16, se puede sustituir el aminoácido que se encuentra en la(s) posición(ones) correspondientes que se encuentran en la secuencia de la leptina de rata madura (SEQ ID NO:12) o la secuencia de la forma 1 de murino madura (SEQ ID NO:143) para diseñar, preparar, y utilizar los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética de acuerdo con la invención. Además, se puede sustituir también otro aminoácido, tal como un aminoácido conservativo o un aminoácido no conservativo, en una o más de las posiciones 4, 32, 33, 35, 50, 64, 68, 71, 74, 77, 78, 89, 97, 100, 102, 105, 106, 107, 108, 111, 118, 136, 138, 142, y 145 a fin de diseñar, preparar, y utilizar los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética de acuerdo con la invención.

Además, los aminoácidos que se encuentran en la leptina madura del mono rhesus (SEQ ID NO:10) que divergen de la forma 1 de la leptina humana madura (SEQ ID NO:16) son (con los restos de aminoácidos indicados en paréntesis en una abreviatura de aminoácido de una letra): 8 (S), 35 (R), 48(V), 53(Q), 60(I), 66(I), 67(N), 68((L), 89(L), 100(L), 108(E), 112 (D), y 118 (L). Debido a que las leptinas humanas maduras estimulan la respuesta biológica en monos, una leptina, tal como la forma 1 de la leptina humana madura (SEQ ID NO:16) que tiene uno más de los aminoácidos divergentes de mono rhesus sustituida por otro aminoácido, tal como los aminoácidos entre paréntesis, puede emplearse en diseñar, preparar, y utilizar polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética de acuerdo con la invención. Debe señalarse que determinados aminoácidos divergentes de rhesus son aquellos que se encuentran en, por ejemplo, la forma 1 de la leptina de murino madura anterior (posiciones 35, 68, 89, 100 y 112). De esta manera, se pueden preparar leptinas en las que uno o más aminoácidos en las posiciones 4, 8, 32, 33, 35, 48, 50, 53, 60, 64, 66, 67, 68, 71, 74, 77, 78, 89, 97, 100, 102, 105, 106, 107, 108, 111, 112, 118, 136, 138, 142, y 145 de, por ejemplo, la forma 1 de la leptina humana madura SEQ ID NO:16 se sustituyen por el(los) correspondiente(s) aminoácido(s) en dicha(s) posición(ones) en leptinas de murino o de mono rhesus (por ejemplo, SEQ ID NO:143 y/o SEQ ID NO:10).

Se pueden preparar otras leptinas eliminando una parte de una secuencia de aminoácidos de leptina, con la condición de que dicha secuencia de aminoácido de leptina puede estimular una respuesta biológica. Dichas secuencias de aminoácidos de leptina son fragmentos activos de leptina. Por ejemplo, leptinas de murino maduras, leptinas de mono rhesus maduras, leptinas humanas maduras, y leptinas de rata madura, y otras leptinas, todas las cuales carecen de una secuencia señal de 21 aminoácidos en el extremo N que está presente en las formas de longitud completa sin procesar de dicha leptina.

Se pueden preparar los siguientes fragmentos activos de leptina de dichas leptinas maduras:

- a) aminoácidos 98-146
- b) aminoácidos 1-32
- 5 c) aminoácidos 40-116
- d) aminoácidos 1-99 y (vinculados a) 112-146,
- e) aminoácidos 1-99 y (vinculados a) 112-146 que tienen uno o más de los aminoácidos 100-111 colocados entre los aminoácidos 99 y 112.

10 Además, Se pueden preparar también dichos fragmentos activos de leptina en que uno o más de los aminoácidos en las posiciones en, por ejemplo, la forma 1 de la leptina humana madura que están sustituidos con los aminoácidos que se encuentran en la(s) posición(ones) correspondientes que se encuentran en, por ejemplo, leptinas maduras de rata, murino, mono, porcino, y/o bovino como se ha divulgado anteriormente. Además, cualesquiera sustituciones o alteraciones pueden estar en la forma de aminoácidos alterados, tales como peptidomiméticos o aminoácidos D.

15 Además, la presente invención abarca polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética que comprenden una leptina, un análogo de leptina, un fragmento activo de leptina, o un derivado de leptina como se ha descrito anteriormente, en el que una leptina, un análogo de leptina, un fragmento activo de leptina, o un derivado de leptina se selecciona entre:

- 20 (a) la secuencia de aminoácidos 1-146 de una leptina seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 143, y la SEQ ID NO: 144; en las que un aminoácido diferente está sustituido en una o más de las siguientes posiciones y retiene la misma numeración (incluso en ausencia de un resto glutaminilo en la posición 28): 4, 32, 33, 35, 25 50, 64, 68, 71, 74, 77, 78, 89, 97, 100, 102, 105, 106, 107, 108, 111, 118, 136, 138, 142, y 145;
- (b) la secuencia de aminoácidos de la subparte (a) en que el resto glutaminilo en la posición 28 está ausente;
- (c) la secuencia de aminoácidos de las subpartes (a) o (b) en la que se añade un resto metionilo en el extremo N;
- 30 (d) una leptina que consiste en un fragmento de la secuencia de aminoácidos de (a), (b), o (c) seleccionados entre el grupo que consiste en:
  - (i) aminoácidos 98-146
  - (ii) aminoácidos 1-32
  - (iii) aminoácidos 40-116
  - (iv) aminoácidos 1-99 y 112-146
  - 35 (v) aminoácidos 1-99 y 112-146 en el que uno o más de los aminoácidos 100-111 se coloca(n) entre los aminoácidos 99 y 122;
  - (vi) la secuencia de aminoácidos de la subparte (i) en la que uno o más de los aminoácidos 100, 102, 105, 106, 107, 108, 111, 118, 136, 138, 142, y 145 está sustituido con otro aminoácido y;
  - (vii) la secuencia de aminoácidos de la subparte (ii) en la que uno o más de los aminoácidos 4, 8 y 32 está sustituido con otro aminoácido;
  - 40 (viii) la secuencia de aminoácidos de la subparte (iii) en la que uno o más de los aminoácidos 50, 53, 60, 64, 66, 67, 68, 71, 74, 77, 78, 89, 97, 100, 102, 105, 106, 107, 108, 111 y 112 está(n) sustituido con otro aminoácido;
  - (ix) la secuencia de aminoácidos de la subparte (iv) en la que uno o más de los aminoácidos 4, 8, 32, 33, 35, 48, 50, 53, 60, 64, 66, 67, 68, 71, 74, 77, 78, 89, 97, 112, 118, 136, 138, 142, y 145 está sustituido con otro aminoácido; y
  - 45 (x) la secuencia de aminoácidos de la subparte (v) en la que uno o más de los aminoácidos 4, 32, 33, 35, 50, 64, 68, 71, 74, 77, 78, 89, 97, 100, 102, 105, 106, 107, 108, 111, 118, 136, 138, 142, y 145 está sustituido con otro aminoácido;
  - 50 (xi) la leptina de cualquiera de las subpartes (i)-(x) en la que se ha añadido una metionina en el extremo N; y
- (e) la leptina de cualquiera de las subpartes (a) a (e) a la cual se une un resto químico;
- (f) la leptina de la subparte (g) en la que dicho resto químico es un resto polimérico soluble en agua;
- 55 (g) una leptina de la subparte (f) en la que dicho resto polimérico soluble en agua es polietilenglicol;
- (h) una leptina de la subparte (f) en la que dicho resto polimérico soluble en agua es un resto de poliaminoácido; y
- (i) una leptina de una cualquiera de las subpartes (e) a (h) en la que dicho resto se une únicamente en el extremo N de dicho resto de proteína.

60 Con respecto a lo anterior, las leptinas a las cuales se une un resto químico son derivados de leptinas. Se ha encontrado que la derivatización de leptinas mediante la unión de uno o más restos químicos proporciona alguna ventaja bajo determinadas circunstancias, tales como aumentar la estabilidad y el tiempo de circulación de la proteína terapéutica y disminuir la inmunogenicidad y la propensión para, por ejemplo, generar anticuerpos neutralizantes y/o la incidencia de reacciones en el sitio de inyección. Véanse, por ejemplo, WO 98/28427, 65 US2007/0020284, la patente de Estados Unidos n.º 4.179.337, de Davis et al., concedida el 18 de diciembre de 1979. Para una revisión, véase Abuchowski et al., en ENZYMES AS DRUGS. (J. S. Holcberg y J. Roberts, eds.

págs. 367-383 (1981)); Francis *et al.*, Id. En consecuencia, cuando se emplea una leptina derivatizada y un ABM o un ABD, se pueden generar ventajosamente polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética de la invención que poseen las ventajas proporcionadas por ambas entidades.

- 5 Los derivados de leptina pueden constituir leptinas en los cuales se ha realizado una modificación química de sus grupos aminoácidos secundarios, átomos de  $\alpha$ -carbono, grupo amino terminal, o grupo de ácido carboxílico terminal. Una modificación química incluye, pero no de forma limitativa, unir uno o más restos químicos, creación de nuevos enlaces, y eliminación de uno o más restos químicos. Las modificaciones en los grupos secundarios de aminoácidos incluyen, sin limitación, alquilación, acilación, formación del éster, formación de la amida, acoplamiento de la maleimida, acilación de grupos  $\epsilon$ -amino de lisina, N-alquilación de la arginina, histidina, o lisina, alquilación de grupos ácido glutámico o aspártico o carboxílico, y desaminación de glutamina o asparagina. Las modificaciones del amino terminal incluyen, sin limitación, el desamino, alquilo N inferior, dialquilo N inferior, y modificaciones de N-acilo. Las modificaciones del amino terminal incluyen, sin limitación, el desamino, alquilo N inferior, dialquilo N inferior, y modificaciones de N-acilo, tales como alquilacilos, alquilacilos ramificados, alquilaril-acilos. Las modificaciones en el grupo carboxi terminal incluyen, sin limitación, la amida, alquil amida inferior, dialquil amida, arilamida, alquilarilamida y modificaciones en el éster de alquilo inferior. el alquilo inferior es un alquilo  $C_1$ - $C_4$ . Además, uno o más grupos secundarios, o grupos terminales, pueden protegerse con grupos protectores conocidos del químico normalmente experto en síntesis. El átomo de carbono  $\alpha$  de un aminoácido puede estar monometilado o dimetilado.
- 10
- 15
- 20 Dichos derivados incluyen leptinas conjugadas a una o más moléculas poliméricas solubles en agua, tales como polietilenglicol ("PEG") o cadenas de ácidos grasos de diversas longitudes (por ejemplo, estearilo, palmitoilo, octanoilo), mediante la adición de poliaminoácidos, tales como poli-his, poli-arg, poli-lis, y poli-ala, o mediante la adición de sustituyentes de moléculas pequeñas que incluyen alquilos cortos y alquilos restringidos (por ejemplo, ramificados, cíclicos, condensados, adamantilo), y grupos aromáticos. En algunas realizaciones, Las moléculas poliméricas solubles en agua pueden tener un peso molecular comprendido entre aproximadamente 500 Daltons a aproximadamente 60.000 Daltons.
- 25

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

30

35

En algunas realizaciones, las moléculas poliméricas solubles en agua se unen a un grupo amino, carboxilo, o tiol, y pueden estar unidas al extremo N o C, o a las cadenas secundarias de lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, o cisteína. Como alternativa, las moléculas poliméricas solubles en agua pueden unirse a grupos diamina y dicarboxílicos. En algunas realizaciones, una leptina se conjuga a una, dos, o tres moléculas de PEG a través de un grupo amino épsilon o un aminoácido lisina.

40

Los derivados de leptina incluyen también leptinas con alteraciones químicas en uno o más restos de aminoácidos. Dichas alteraciones químicas incluyen amidación, glicosilación, acilación, sulfatación, fosforilación, acetilación, y ciclación. Las alteraciones químicas pueden producirse singularmente en los extremos N o C o en las cadenas secundarias de restos de aminoácidos en la secuencia de una leptina. En una realización, El extremo C de estos péptidos puede tener un grupo exento de  $-OH$  o  $-NH_2$ . En otra realización, el extremo N terminal puede estar protegido con un grupo isobutiloxicarbonilo, un grupo isopropiloxicarbonilo, un grupo n-butiloxicarbonilo, un grupo etoxicarbonilo, un grupo isocaproilo ("isocap"), un grupo octanilo, un grupo octil glicina (denotado como "G(Oct)" u "octilGly"), un grupo de ácido 8-aminooctanoico, un dansilo, y/o un grupo Fmoc. En algunas realizaciones, la ciclación puede ser a través de la formación de puentes disulfuro. Como alternativa, pueden existir múltiples sitios de alteración química a lo largo de la secuencia de aminoácidos de la leptina.

45

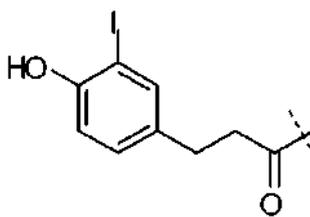
50

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

55

60

65



Las leptinas pueden yodarse (tal como radiomarcarse con <sup>125</sup>I) antes o después de la modificación de Bolton-Hunter.

5 A fin de preparar polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética de acuerdo con la invención, un derivado de leptina para uso en la preparación de la misma puede incluir una o más modificaciones de un resto de aminoácido no esencial. En el contexto de la invención, un resto aminoácido "no esencial" es un resto que se puede alterar, *por ejemplo*, derivatizado, sin eliminar o reducir sustancialmente la actividad (por ejemplo, la actividad agonista) de la leptina. Los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética de la invención pueden incluir derivatizaciones de  
 10 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más restos de aminoácidos del resto de leptina; de estos, uno o más restos de aminoácidos pueden ser restos de aminoácidos no esenciales. Además, los polipéptidos de la invención pueden derivatizarse de tal manera que incluyen adiciones de al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más aminoácidos del resto de leptina sin eliminar o reducir sustancialmente la actividad del polipéptido. Además, tales como los restos de aminoácidos no esenciales pueden sustituirse por un resto de aminoácido que es susceptible de derivatización como  
 15 se describe a lo largo del presente documento.

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

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

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

Los derivados de leptina utilizados en el diseño y la preparación de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética de acuerdo con la invención pueden prepararse uniendo poliaminoácidos o aminoácidos puntuales ramificados al resto de leptina. Por ejemplo, el poliaminoácido puede ser una proteína transportadora adicional, tal como un resto Fc, que puede servir para aumentar también la semivida en circulación del polipéptido diseñado mediante ingeniería genética, además de las ventajas conseguidas mediante la unión de un ABM o un ABD. Además, se pueden seleccionar dichos poliaminoácidos a partir del grupo consistente en albúmina sérica (tal como albúmina de suero humano), un anticuerpo adicional o una porción del mismo (por ejemplo, la región Fc), u otros poliaminoácidos, por ejemplo, polilisinas. Como se indica a continuación, la localización de la unión del poliaminoácido puede ser en el extremo N del resto de leptina, o el extremo C, o en otros lugares entre ellos, y también pueden conectarse mediante un resto "enlazador" químico a la leptina, tal como un enlazador peptídico o un enlazador no peptídico.

El polímero puede tener cualquier peso molecular, y puede estar ramificado o no ramificado. Para el polietilenglicol, el peso molecular preferido es entre aproximadamente 2 kilodaltons (kDa) y aproximadamente 100 kDa (el término "aproximadamente" indica que en las preparaciones de polietilenglicol, algunas moléculas pesarán más, algunas menos, que el peso molecular indicado) para facilitar la manipulación y la fabricación. En determinadas realizaciones, el polietilenglicol está entre aproximadamente 2 kDa y aproximadamente 60 kDa. En determinadas realizaciones, el polietilenglicol está entre aproximadamente 2 kDa y aproximadamente 40 kDa. En determinadas realizaciones, el polietilenglicol está entre aproximadamente 5 kDa y aproximadamente 40 kDa. En determinadas realizaciones, el polietilenglicol está entre aproximadamente 10 kDa y aproximadamente 40 kDa. En determinadas realizaciones, el polietilenglicol está entre aproximadamente 5 kDa y aproximadamente 30 kDa. En determinadas realizaciones, el polietilenglicol está entre aproximadamente 5 kDa y aproximadamente 20 kDa. En determinadas realizaciones, el polietilenglicol está entre aproximadamente 10 kDa y aproximadamente 20 kDa. Se pueden usar otros tamaños, dependiendo del perfil terapéutico deseado (por ejemplo, la duración de la liberación sostenida deseada, las características de solubilidad, los efectos, en su caso, sobre la actividad biológica, la facilidad en la manipulación, el grado o la ausencia de antigenicidad y otros efectos conocidos del polietilenglicol unido a una leptina y/o a un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de la invención). Las consideraciones adicionales que pueden influenciar en la selección de un PEG de un peso molecular concreto que se puede unir a una leptina para generar un derivado de acuerdo con la invención incluyen la extensión en la cual dicho peso molecular de PEG puede: mitigar la agregación y/o aumentar la solubilidad del polipéptido diseñado mediante ingeniería genética, cuando está presente en una composición o formulación farmacéuticamente aceptable, o cuando se expone a fluidos o tejidos fisiológicos tras la administración a un sujeto (tal como mediante inyección); mitigar la incidencia de las reacciones en el sitio de inyección producidas por la administración de la leptina del polipéptido diseñado mediante ingeniería genética tras la administración a un sujeto mediante inyección; mitigar la generación de anticuerpos neutralizantes que puedan aumentar frente a la leptina del polipéptido diseñado mediante ingeniería genética como resultado de la administración de dicho polipéptido diseñado mediante ingeniería genética a un sujeto; y similares.

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

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

Se puede desear específicamente diseñar y preparar una leptina modificada químicamente en el extremo terminal para el uso en la preparación de polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética de la invención. Utilizando el polietilenglicol como ilustración de las presentes composiciones, se puede seleccionar entre varias moléculas de

polietilenglicol (según el peso molecular, ramificación, etc.), la proporción de moléculas de polietilenglicol a leptina o moléculas de polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética, como puede ser el caso, en la mezcla de reacción, el tipo de reacción de pegilación que se va a llevar a cabo, y el método de obtener la proteína seleccionada pegilada en el extremo N. El método de obtener la preparación pegilada en el extremo N (es decir, separando este resto de otros restos monopegilados si es necesario) puede ser mediante purificación del material pegilado en el extremo N de una población de moléculas de proteínas pegiladas. La modificación química selectiva en el extremo N puede llevarse a cabo mediante alquilación reductora lo que aprovecha las diferencias de reactividad entre los diferentes tipos de grupos amino primarios (lisina frente al extremo N) disponibles para la derivatización en una proteína concreta. En las condiciones de reacción adecuadas, se consigue la derivatización sustancialmente selectiva de la proteína en el extremo N con un grupo carbonilo que contiene el polímero. Por ejemplo, se puede pegar la proteína del extremo N selectivamente llevando a cabo la reacción a un pH que permite tomar ventaja de las diferencias de pK<sub>a</sub> entre el grupo ε-amino de los restos de lisina y el del grupo α-amino del resto del extremo N de la proteína. Mediante dicha derivatización selectiva, se controla la unión de un polímero soluble en agua a la proteína: a conjugación con el polímero tiene lugar de forma predominante en el extremo N de la proteína y no se produce modificación significativa de otros grupos reactivos, tales como grupos amino de la cadena lateral de lisina. Utilizando la alquilación reductora, el polímero soluble en agua puede ser del tipo descrito anteriormente, y debería tener un único aldehído reactivo para el acoplamiento con la proteína. Se puede usar polietilenglicol propionaldehído, que contiene un único aldehído reactivo.

En algunas realizaciones, se proporcionan compuestos que tienen un enlazador, por ejemplo, L1, como se describe en el presente documento, unido covalentemente a un dominio de hormona polipeptídico con un péptido ABD. En algunas realizaciones, un primer enlazador (L1) se une covalentemente a HD1 en el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética. En algunas realizaciones, el dominio de hormona polipeptídico (por ejemplo, HD1) como se describe en el presente documento) puede unirse covalentemente al péptido ABD mediante un enlazador peptídico. Cualquier enlazador es opcional; es decir, cualquier enlazador puede ser simplemente un enlace. Cuando está presente, la estructura química de un enlazador no es crítica debido a que sirve principalmente como una función separadora. En una realización, el enlazador comprende de 1 a 30 o menos aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. Los aminoácidos se pueden seleccionar a partir de los 20 aminoácidos que se producen de forma natural. Como alternativa, los aminoácidos no naturales se pueden incorporar tanto mediante síntesis química, modificación química posterior a la traducción o mediante incorporación in vivo mediante la expresión recombinante en una célula hospedadora. Algunas de estos aminoácidos pueden estar glicosilados.

En determinadas realizaciones el 1 a 30 o menos aminoácidos se seleccionan entre glicina, alanina, prolina, asparagina, glutamina, lisina, aspartato, y glutamato. En una realización adicional el enlazador está constituido por una mayoría de aminoácidos que están estéricamente no impedidos, tales como glicina, alanina y/o serina. Son particularmente útiles las poliglicinas, por ejemplo, (Gly)<sub>3</sub>, (Gly)<sub>4</sub> (SEQ ID NO:116), (Gly)<sub>5</sub> (SEQ ID NO:117), como son las polialaninas, poli(Gly-Ala), poli(Gly-Ser), poli(Gly-Glu), poli(Gly-Lys), poli(Gly-Asp), y poli(Gly-Arg). Otros ejemplos específicos de enlazadores son (Gly)<sub>3</sub>Lys(Gly)<sub>4</sub> (SEQ ID NO:118); (Gly)<sub>3</sub>AsnGlySer(Gly)<sub>2</sub> (SEQ ID NO:119); (Gly)<sub>3</sub>Cys(Gly)<sub>4</sub> (SEQ ID NO:120); y GlyProAsnGlyGly (SEQ ID NO:121). Las combinaciones de Gly y Ala son particularmente útiles ya que son una combinación de Gly y Ser. De esta manera, En una realización adicional, el enlazador peptídico se selecciona entre el grupo que consiste en un péptido rico en glicina, por ejemplo, Gly-Gly-Gly; las secuencias [Gly-Ser]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:122), [Gly-Gly-Ser]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:123), [Gly-Gly-Gly-Ser]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:124) y [Gly-Gly-Gly-Gly-Ser]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:125), donde n es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10, por ejemplo, [Gly-Gly-Gly-Ser]<sub>1</sub>, [Gly-Gly-Gly-Gly-Ser]<sub>1</sub>, [Gly-Gly-Gly-Ser]<sub>4</sub>, o [Gly-Gly-Gly-Ser]<sub>3</sub>.

En determinadas realizaciones, se pueden utilizar enlazadores cargados. Dichos enlazadores cargados pueden contener un número significativo de restos ácidos (por ejemplo, Asp, Glu, y similares), o puede contener un número significativo de restos de bases (por ejemplo, Lys, Arg, y similares), de tal manera que el enlazador tiene un pI inferior a 7 o mayor de 7, respectivamente. Como entiende el experto, y todas las demás cosas son iguales, cuanto mayor es la cantidad relativa de restos ácidos o básicos en un enlazador dado, menor o mayor, respectivamente, será el pI del enlazador. Dichos enlazadores pueden transmitir ventajas a los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética divulgados en el presente documento, tales como mejorar las características de solubilidad y/o estabilidad de dichos polipéptidos a un pH concreto, tal como un pH fisiológico (por ejemplo, entre pH 7,2 y pH 7,6, inclusive), o un pH de una composición farmacéutica que comprende dichos polipéptidos.

Por ejemplo, un "enlazador ácido" es un enlazador que tiene un pI de menos de 7; entre 6 y 7, inclusive; entre 5 y 6, inclusive; entre 4 y 5, inclusive; entre 3 y 4, inclusive; entre 2 y 3, inclusive; o entre 1 y 2, inclusive. De manera similar, un "enlazador básico" es un enlazador que tiene un pI de más de 7; entre 7 y 8, inclusive; entre 8 y 9, inclusive; entre 9 y 10, inclusive; entre 10 y 11, inclusive; entre 11 y 12 inclusive, o entre 12 y 13, inclusive. En determinadas realizaciones, un enlazador ácido contendrá una secuencia que se selecciona entre el grupo que consiste en [Gly-Glu]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:126); [Gly-Gly-Glu]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:127); [Gly-Gly-Gly-Glu]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:128); [Gly-Gly-Gly-Gly-Glu]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:129); [Gly-Asp]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:130); [Gly-Gly-Asp]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:131); [Gly-Gly-Gly-Asp]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:132); [Gly-Gly-Gly-Gly-Asp]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:133) donde n es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, o más; por ejemplo, [Gly-Gly-Glu]<sub>6</sub>. En determinadas realizaciones, un enlazador básico contendrá una secuencia que se selecciona entre el grupo que consiste en [Gly-Lys]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:134); [Gly-Gly-Lys]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:135); [Gly-Gly-Gly-Lys]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:136); [Gly-Gly-Gly-Gly-Lys]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:137); [Gly-Arg]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:138); [Gly-Gly-Arg]<sub>n</sub>

(SEQ ID NO:139); [Gly-Gly-Gly- Arg]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:140); [Gly-Gly-Gly-Gly- Arg]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:141) donde n es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, o más; por ejemplo, [Gly-Gly-Lys]<sub>6</sub>.

Además, pueden prepararse enlazadores que poseen motivos o características estructurales, tales como una hélice  $\alpha$ . Por ejemplo, dicho enlazador puede contener una secuencia que se selecciona entre el grupo que consiste en [Glu-Ala-Ala-Ala-Lys]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:142), donde n es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, o más; por ejemplo, [Glu-Ala-Ala-Ala-Lys]<sub>3</sub>, [Glu-Ala-Ala-Ala-Lys]<sub>4</sub>, o [Glu-Ala-Ala-Ala-Lys]<sub>5</sub>.

Además, puede emplearse un enlazador no peptídico para servir como el resto L1 de un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética descrito en el presente documento. Por ejemplo, como entiende en la materia, un enlazador no peptídico ilustrativo tal como un enlazador de PEG puede emplearse de esta manera. Véanse, por ejemplo, WO2000024782. En determinadas realizaciones, dicho enlazador de PEG tiene un peso molecular de 100 Da a 1000 kDa. En determinadas realizaciones, dicho enlazador de PEG tiene un peso molecular de 100 Da a 500 kDa. En determinadas realizaciones, dicho enlazador de PEG tiene un peso molecular de 100 Da a 50 kDa. En determinadas realizaciones, dicho enlazador de PEG tiene un peso molecular de 100 Da a 10 kDa. En determinadas realizaciones, dicho enlazador de PEG tiene un peso molecular de 100 Da a 5 kDa. En determinadas realizaciones, dicho enlazador de PEG tiene un peso molecular de 100 Da a 1 kDa. En determinadas realizaciones, dicho enlazador de PEG tiene un peso molecular de 100 Da a 500 Da.

Se entiende también que los enlazadores adecuados para el uso de acuerdo con la invención pueden poseer una o más de las características y motivos descritos anteriormente. Por ejemplo, un enlazador puede comprender un enlazador ácido, así como un motivo estructural, tal como una hélice alfa. De manera similar, un enlazador puede comprender un enlazador básico y un motivo estructural, tal como una hélice alfa. Un enlazador puede comprender un enlazador ácido, un enlazador básico, y un motivo estructural, tales como una hélice  $\alpha$ . Además, se entiende también que los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética de acuerdo con la invención pueden poseer más de un enlazador, y cada uno de dichos enlazadores puede poseer una o más de las características descritas anteriormente.

Los enlazadores descritos en el presente documento son ilustrativos, y los enlazadores comprendidos en el alcance de la presente invención pueden ser mucho más largos y pueden incluir otros restos. En una realización, expresamente excluidos están los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética en los que el compuesto de leptina está unido directamente al ABD sin un enlazador.

En algunas realizaciones, el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética incluye un ABD en el extremo N, y un HD1 en el extremo C. A la inversa, en algunas realizaciones, el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética incluye un ABD en el extremo C, y un HD1 en el extremo N. En algunas realizaciones, tanto el extremo N como el extremo C es una leptina, un fragmento de leptina, o un análogo de leptina. Preferentemente, el ABD está en el extremo N de un compuesto de leptina. Además de las realizaciones que incluyen un ABD y un HD1, el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética puede tener la estructura ABD-HD1 o HD1-ABD (ambas lecturas en la orientación del extremo N al extremo C).

Se entiende que está ausente una indicación expresa del extremo N y/o el extremo C de un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética que se muestra en el presente documento, el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética es para leerse en la orientación del extremo N al extremo C. Por ejemplo, donde HD1 es una leptina o un análogo de la misma, los términos HD1-ABD, HD1-L1-ABD, HD1-ABD, y el medio similar, en ausencia de una indicación expresa del extremo N y/o el extremo C, de que el compuesto de leptina reside en el extremo N del polipéptido diseñado mediante ingeniería genética, y el ABD reside en el extremo C. A la inversa, si el extremo N y/o el extremo C está indicado de forma expresa, entonces, el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética es para leerse de acuerdo con la indicación expresa de los términos. Por ejemplo, los términos HD1<sub>C-term</sub>-ABD, HD1-L1-ABD<sub>N-term</sub> y similares significan que el ABD reside en el extremo N del polipéptido diseñado mediante ingeniería genética, y HD1 reside en el extremo C.

En algunas realizaciones de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética descritos anteriormente, HD1 es una leptina o metreleptina humana. En algunas realizaciones adicionales, HD1 es un análogo de leptina como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, el análogo de leptina es leptina A100, A300 o A500.

En algunas realizaciones, el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética descrito en el presente documento tiene una afinidad por la albúmina sérica que es diferente que la afinidad del polipéptido ABD solo, es decir, en ausencia de un dominio de hormona conjugado. A fin de obtener la asociación eficaz, el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética puede tener una afinidad de unión por la albúmina sérica de tal manera que la constante de disociación es, por ejemplo, menos de aproximadamente  $10^{-6}$  M,  $10^{-7}$  M,  $10^{-8}$  M,  $10^{-9}$  M,  $10^{-10}$  M,  $10^{-11}$  M,  $10^{-12}$  M,  $10^{-13}$  M,  $10^{-14}$  M o incluso  $10^{-15}$  M. En algunas realizaciones, la afinidad no es excesivamente fuerte de tal manera que el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética puede disociarse de la albúmina y estimular una respuesta biológica, por ejemplo, la unión a un receptor, por ejemplo, un receptor de leptina. La afinidad se puede medir como se describe en la solicitud PCT publicada N.º WO 2009/016043, preferentemente para la albúmina

sérica humana.

En algunas realizaciones, un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética descrito en el presente documento es superior a un compuesto correspondiente que tiene un resto diferente que puede alargar la semivida en plasma (por ejemplo, PEG o de Fc o albúmina) conjugado con un(os) dominio(s) de hormona. En este contexto, el término "superior" se refiere a varias propiedades funcionales que podría pesarse en la evaluación de un tratamiento para una enfermedad o trastorno. Por ejemplo, el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética descrito en el presente documento podría requerir menos componente biológicamente activo (dominio de hormona), por ejemplo, 1X, 2X, 3X, 4X, 5X, o incluso menos, que el correspondiente compuesto que tiene un resto diferente conjugado con el(los) dominio(s) de hormona. Para más ilustración, el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética descrito en el presente documento podría tener mayor potencia, por ejemplo, 1,5X, 2X, 3X, 4X, 5X, 10X, 20X, 50X, o incluso más potencia.

Los compuestos de polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética contemplados en el presente documento incluyen los compuestos que se muestran en la Tabla 2 siguiente.

**Tabla 2. Polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética seleccionados**

Comp.	Secuencia	MW
1	MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALK LHILAALPTGGGGASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHT QSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMDQTLAVYQQILTSM PSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPQASGLETLESL GGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGC (SEQ ID NO:53)	21647,2
2	MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALK LHILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGSSASVPIQKVQDDTKT LIK TIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMD QTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSC HLPQASGLETLESLGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDM LQQLDLSPGC (SEQ ID NO:54)	22509,0
3	MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLE FIPGLHPILTLKMDQTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLEN LRDLLHVLAFSK SCHLPQASGLETLESLGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGCTGGGGSASLAEAKVL ANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALKLHILAALP (SEQ ID NO:55)	21734,3
4	MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLE FIPGLHPILTLKMDQTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLEN LRDLLHVLAFSK SCHLPQASGLETLESLGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGCTGGGSGGGSGGGSG GGASLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGV EALKLHILAALP (SEQ ID NO:56)	22509,0
9	MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALK LHILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGSSASISIEKIQADTKTL TKTIITRIIQLSTQNGVSTDQRVSGLD FIPGNQQFQNLADM DQTLAVYQQILSSLPMPDRTQISNDLENLRSLFALLATLKN CPFTRSDGLDTMEIWGGIVEESLYSTE VVTLDRLRKS LKNI EKQLDHIQGC (SEQ ID NO:57)	22984,4

12	MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALK LHILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGSASVPIQKVQDDTKT LIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMD QTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSC HLPWASGLETLD SLGGVLEASGYSTE VVALSRLQGS LQD MLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:58)	22597,1
13	MVPIQKVQDDTKT LIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLD FIPGLHPILTLKMDQTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLEN LRDLLHVLA FSKSCHLPWASGLETLD SLGGVLEASGYSTE VVALSRLQGS LQDMLWQLDLSPGCTGGGGSGGGSGGGS GGGSASLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEG VEALKLHILAALP (SEQ ID NO:59)	22597,1
14	MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALK LHILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGSASPIQRVQDDTKTLI KTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTL SGMDQ ILATYQQILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCP PRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTE VVALSRLKAALQDML QLDRNPGC (SEQ ID NO:60)	22592,9
15	MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALK LHILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGSASPIQRVQDDTKTLI KTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTL SGMDQI LATYQQILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCP RARGSDTIKGLGNVLRASVHSTE VVALSRLKAALQDMLR QLDRNPGC (SEQ ID NO:61)	22576,7
16	MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALK LHILAALPTGPIQRVQDDTKT LIKTIITRINDISPPQGVCSR VAGLDFIPRVQSVRTL SGMDQILATYQQILTSLQSRNVIQIS NDLENLRDLLHVLA FSKSCPVRARGSDTIKGLGNVLRAS VHSTE VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:62)	21332,7
17	MLAEAKVLANRELDKYGVSDYYKNINRAKTVEGVRALK LHILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGSASVPIQKVQDDTKT LIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMD QTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSC HLPWASGLETLD SLGGVLEASGYSTE VVALSRLQGS LQD MLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:63)	22624,7
18	MLAEAKVLANRELDKYGVSDYYKNINRAKTVEGVRALK LHILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGSASVPIQKVQDDTKT LIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMD QTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSC HLPQASGLETLESLGGVLEASGYSTE VVALSRLQGS LQDM LQQLDLSPGC (SEQ ID NO:64)	22536,6

19	MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALK LHILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGSASVPIQKVQDDTKT LIKTIIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMD QTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSC HLPQASGLETLDLGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDM LQQDLSPGC (SEQ ID NO:65)	22480,95
20	MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALK LHILAALPTGLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKA AAASVPIQKVQDDTKLIKTIIVTRINDISHTQSVSSKQKVT GLEFIPGLHPILTLKMDQTLAVYQQILTSMP SRNVIQISND LENLRDLLHVLA FSKSCHLPQASGLETLESLGGVLEASGY STE VVALSRLQGSLQDMLQQDLSPGC (SEQ ID NO:66)	24224,6
21	MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALK LHILAALPTGGEGGEGGEGGEGGEGGEGEASVPIQKVQDDTK TLIKTIIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMD DQTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKS CHLPQASGLETLESLGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQD MLQQDLSPGC (SEQ ID NO:67)	22876,9
22	MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALK LHILAALPTGGKGGKGGKGGKGGKGGKASVPIQKVQDDT KLIKTIIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLK MDQTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA F KSCHLPQASGLETLESLGGVLEASGYSTE VVALSRLQGS LQDMLQQDLSPGC (SEQ ID NO:68)	22871,2
23	MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALK LHILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGSASVPIQKVQDDTKT LIKTIIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMD QTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSC SLPQASGLETLESLGEVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDIL QQDLSPEC (SEQ ID NO:69)	22583,6
24	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALT LHILAALPTGGGGASVPIQKVQDDTKLIKTIIVTRINDISHT QSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMDQTLAVYQQILTS MP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPQASGLETLE SLGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDMLQQDLSPGC (SEQ ID NO:70)	21597,02
25	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALT LHILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGSASVPIQKVQDDTKT LIKTIIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMD QTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSC HLPQASGLETLESLGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDM LQQDLSPGC (SEQ ID NO:71)	22458,80

26	MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLE FIPGLHPILTLKMDQTLAVYQQILSMPSRNVIQISNDLEN LRDLLHVLAFSKSchLPQASGLETLESLGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGCTGGGGSASLAEAKED AIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTHILAALP (SEQ ID NO:72)	21684,10
27	MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLE FIPGLHPILTLKMDQTLAVYQQILSMPSRNVIQISNDLEN LRDLLHVLAFSKSchLPQASGLETLESLGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGCTGGGGSAGGGSGGGSG GGASLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGV EALTHILAALP (SEQ ID NO:73)	22458,80
28	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALT LHILAALPTGGGGSAGGGSGGGSGGGSSASISIEKIQADTKTL TKTIITRIQLSTQNGVSTDQRVSGLDFIPGNQQFQNLADM DQTLAVYQQILSSLPMPDRTQISNDLENLRSLFALLATLKN CPFTRSDGLDTMEIWGGGIVEESLYSTEVVTLDRLRKSLKNI EKQLDHIQGC (SEQ ID NO:74)	22934,18
29	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALT LHILAALPTGGGGSAGGGSGGGSGGGSSASVPIQKVQDDTKT LIKTIIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMD QTLAVYQQILSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSC HLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTEVVALSRLQGSLQD MLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:75)	22546,92
30	MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLD FIPGLHPILTLKMDQTLAVYQQILSMPSRNVIQISNDLEN LRDLLHVLAFSKSchLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGCTGGGGSAGGGSGGGSS GGASLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEG VEALTHILAALP (SEQ ID NO:76)	22546,92
31	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALT LHILAALPTGGGGSAGGGSGGGSGGGSSASPIQRVQDDTKTLI KTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQ ILATYQQILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCP PRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEVVALSRLKAALQDML RQLDRNPGC (SEQ ID NO:77)	22544,03
32	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALT LHILAALPTGGGGSAGGGSGGGSGGGSSASPIQRVQDDTKTLI KTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQI LATYQQILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCP RARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEVVALSRLKAALQDMLR QLDRNPGC (SEQ ID NO:78)	22527,96

33	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALT LHILAALPTGPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCS VAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQILTSLSQSRNVIQIS NDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPRARSDTIKGLGNVLRAS VHSTEVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:79)	21196,74
34	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALT LHILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGSSASVPIQKVQDDTKT LIKTIIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMD QTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSC HLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTEVALSRLQGSQD MLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:80)	22546,92
35	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALT LHILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGSSASVPIQKVQDDTKT LIKTIIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMD QTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSC HLPQASGLETLESLGGVLEASGYSTEVALSRLQGSQDM LQQDLSPGC (SEQ ID NO:81)	22458,80
36	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALT LHILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGSSASVPIQKVQDDTKT LIKTIIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMD QTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSC HLPQASGLETLDLGGVLEASGYSTEVALSRLQGSQDM LQQDLSPGC (SEQ ID NO:82)	22430,75
37	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALT LHILAALPTGLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAKA AAASVPIQKVQDDTKLIKTIIVTRINDISHTQSVSSKQKVT GLEFIPGLHPILTLKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISND LENLRDLLHVLAFSKCHLPQASGLETLESLGGVLEASGY STEVALSRLQGSQDMLQQDLSPGC (SEQ ID NO:83)	24175,99
38	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALT LHILAALPTGGEGGEGGEGGEGGEGGEGEASVPIQKVQDDTK TLIKTIIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMD DQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKS CHLPQASGLETLESLGGVLEASGYSTEVALSRLQGSQD MLQQDLSPGC (SEQ ID NO:84)	22828,13
39	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALT LHILAALPTGGKGGKGGKGGKGGKGGKASVPIQKVQDDT KTLIKTIIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLK MDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFS KSCHLPQASGLETLESLGGVLEASGYSTEVALSRLQGS QDMLQQDLSPGC (SEQ ID NO:85)	22836,51

40	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALT LHILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGSSASVPIQKVQDDTKT LIKTIIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLSKMD QTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSC SLPQASGLETLESLGEVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDIL QQLDLSPEC (SEQ ID NO:86)	22534,83
41	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALIS EILAALPTGGGGASVPIQKVQDDTKTLIKTIIVTRINDISHTQ SVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLSKMDQTLAVYQQILTSMPS SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKKSCHLPQASGLETLESL GGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGC (SEQ ID NO:87)	21574,96
42	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALIS EILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGSSASVPIQKVQDDTKTL IKTIIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLSKMDQ TLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKKSCH LPQASGLETLESLGGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDML QQLDLSPGC (SEQ ID NO:88)	22436,75
43	MVPIQKVQDDTKTLIKTIIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLE FIPGLHPILTLSKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLEN LRDLLHVLAFSKKSCHLPQASGLETLESLGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGCTGGGGSSASLAEAKED AIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALISEILAALP (SEQ ID NO:89)	21662,04
44	MVPIQKVQDDTKTLIKTIIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLE FIPGLHPILTLSKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLEN LRDLLHVLAFSKKSCHLPQASGLETLESLGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGCTGGGGSGGGSGGGSG GGSSASLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGV EALISEILAALP (SEQ ID NO:90)	22436,75
45	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALIS EILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGSSASISIEKIADTKTLT KTIITRIIQLSTQNGVSTDQRVSGLDFIPGNQQFQNLADM QTLAVYQQILSSLPMPDRTQISNDLENLRSLFALLATLKNC PFTRSDGLDTMEIWGGIVEESLYSTEVTLDRLRKSLEK KQLDHIQGC (SEQ ID NO:91)	22912,13
46	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALIS EILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGSSASVPIQKVQDDTKTL IKTIIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMD QTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSC HLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQD MLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:92)	22524,86

47	MVPIQKVQDDTKTIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLD FIPGLHPILTLKMDQTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLEN LRDLLHVLA FSKSCHLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGCTGGGGSGGGSGGGG GGGSASLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEG VEALISEILAALP (SEQ ID NO:93)	22524,86
48	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALIS EILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGGSASPIQRVQDDTKTIK TIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQIL ATYQQILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCPVP RARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEVVALSRLKAALQDMLR QLDRNPGC (SEQ ID NO:94)	22521,97
49	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALIS EILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGGSASPIQRVQDDTKTIK TIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQIL ATYQQILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCPVP RARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEVVALSRLKAALQDMLR QLDRNPGC (SEQ ID NO:95)	22505,91
50	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALIS EILAALPTGPIQRVQDDTKTIKTITRINDISPPQGVCSRPRV AGLDFIPRVQSVRTL SGMDQILATYQQILTSLQSRNVIQISN DLENLRDLLHVLA FSKSCPVP RARGSDTIKGLGNVLRASV HSTEVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:96)	21174,68
51	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALIS EILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGGSASVPIQKVQDDTKTL IKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMD QTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSC HLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQD MLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:97)	22524,86
52	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALIS EILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGGSASVPIQKVQDDTKTL IKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMDQ TLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCH LPQASGLETLES LGGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDML QQDLSPGC (SEQ ID NO:98)	22436,75
53	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALIS EILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGGSASVPIQKVQDDTKTL IKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMD QTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSC HLPQASGLETLDLGGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDM LQQLDLSPGC (SEQ ID NO:99)	22408,70

54	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALIS EILAAALPTGLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAA AASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGL EFIPGLHPILTLKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLE NLRDLLHVLAFSKSchLPQASGLETLES LGGVLEASGYST EVVALSRLQGSLQDMLQQDLSPGC (SEQ ID NO:100)	24153,93
55	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALIS EILAAALPTGGEGGEGGEGGEGGEGGEGGEASVPIQKVQDDTKT LIK TIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMD QTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSC HLPQASGLETLES LGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDM LQQDLSPGC (SEQ ID NO:101)	22806,08
56	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALIS EILAAALPTGGKGGKGGKGGKGGKGGKASVPIQKVQDDTK TLIK TIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMD DQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKS CHLPQASGLETLES LGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQD MLQQDLSPGC (SEQ ID NO:102)	22800,43
58	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALIS EILAAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGSSASVPIQKVQDDTKTL IK TIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMDQ TLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCS LPQASGLETLES LGGEVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDILQ QLDLSPEC (SEQ ID NO:103)	22512,78
59	MLAEAKVLANRELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEAL TLHILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGSSASVPIQKVQDDTK TLIK TIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMD DQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKS CHLPQASGLETLES LGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQD MLQQDLSPGC (SEQ ID NO:104)	22455,85
60	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKRLISKAKTVEGVKALIS EILAAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGSSASVPIQKVQDDTKTL IK TIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMDQ TLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSch LPQASGLETLES LGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDML QQDLSPGC (SEQ ID NO:105)	22450,87
61	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALT LHILAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGSSASVPIQKVQDDTKT LIK TIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMD QTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSC HLPQASGLETLES LGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDM LQQDLSPGC (SEQ ID NO:106)	22458,80

62	MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALIS EILAAALPTGGGGSGGGSGGGSGGGSSASVPIQKVQDDTKL IKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMDQ TLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCH LPQASGLETLESLGGVLEASGYSTEVVALSRLQGSLQDML QQDLSPGC (SEQ ID NO:107)	22436,75
----	--	----------

Se contemplan específicamente los compuestos de las anteriores secuencias en los que la metionina en el extremo N está ausente, por ejemplo, donde el extremo N comienza por ejemplo con VPIQKV o LAEAK, para los compuestos de leptina, la metionina del extremo N está presente principalmente por comodidad para la expresión bacteriana. Sin embargo, los péptidos conjugados de la presente invención pueden expresarse en una célula hospedadora eucariota (por ejemplo, levadura (por ejemplo, Pichia), de mamíferos, baculovirus) u otra célula hospedadora que tiene un procesamiento proteolítico en el extremo N posterior a la traducción para dar como resultado un aminoácido en el extremo N que se encuentra que se encuentra en un análogo de péptido maduro que se produce naturalmente de la hormona deseada o la secuencia ABD. Como alternativa, una secuencia en el extremo N utilizada para la expresión y/o la secreción puede ser una que puede eliminarse posteriormente a la traducción, por ejemplo, como mediante el uso de una proteasa tal como TEV.

### III. Métodos de diseño y producción

**Diseño de construcciones.** Los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética descritos en el presente documento pueden diseñarse al nivel de aminoácidos. Estas secuencias pueden a continuación someterse a traducción inversa utilizando varios productos conocidos en la técnica de tal manera que se optimice la secuencia de nucleótidos para el hospedador de la expresión deseado, por ejemplo, basándose en la expresión de la proteína, optimización de codones, y el contenido del sitio de restricción. Por ejemplo, la secuencia de nucleótidos puede optimizarse para E. coli basándose en la expresión de la proteína y para el contenido del sitio de restricción. Basándose en la secuencia de nucleótidos de interés, se pueden proporcionar oligonucleótidos solapantes mediante la PCR multietapas, como se conoce en la materia. Estos oligonucleótidos pueden utilizarse en múltiples reacciones de la PCR en condiciones bien conocidas en la materia para preparar el ADN que codifica la proteína de interés. Para un ejemplo es 1X tampón Ampliqaq, CaCl<sub>2</sub> 1,3 mM, dNTP 200uM, 4 U de Ampliqaq Gold, 0,2 uM de cada cebador (AmpliTaqa Gold, ABI), con parámetros de ciclación: (94°C:30 s, 58°C:1 min, 72°C:1 min), 35 ciclos.

Se pueden añadir sitios de restricción a los extremos de los productos de la PCR para uso de la ligadura de un vector, como se conoce en la materia. Los sitios específicos pueden incluir Nde1 y Xho1, de tal manera que el ADNc puede estar a continuación en el marco de lectura adecuado en un vector de expresión pET45b (Novagen). Utilizando estos sitios, cualquier etiqueta His en el extremo N que esté en este vector puede retirarse ya que el sitio de inicio de la traducción estaría en la dirección 3' de la etiqueta. Una vez que se han completado las construcciones de expresión, se puede llevar a cabo la verificación mediante secuenciación utilizando, por ejemplo, el cebador del promotor T7, el cebador del terminador T7 y los protocolos normalizados de ABI BigDye Term v3.1 como se conoce en la técnica. Se puede obtener la información de la secuencia a partir por ejemplo de, un analizador de ADN ABI 3730 y se puede analizar utilizando el programa informático Vector NTI v.10 (Invitrogen). Se pueden diseñar las construcciones de expresión de una manera modular de tal manera que las secuencias del enlazador se pueden cortar fácilmente y cambiarse, como se conoce en la materia.

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

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

Los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética descritos en el presente documento pueden prepararse utilizando técnicas de síntesis de péptidos en fase sólida normalizadas, tal como un sintetizador de péptidos automatizado o semiautomatizado. Normalmente, utilizando dichas técnicas, un aminoácido protegido con alfa-N-carbamoilo y un aminoácido unido a la cadena peptídica en crecimiento o a una resina se acoplan a TA en un disolvente inerte (por ejemplo, dimetilformamida, n-metilpirrolidona, cloruro de metileno, y similares) en presencia de agentes de acoplamiento (por ejemplo, diciclohexilcarbodiimida, 1-hidroxibenzo-triazol, y similares) en presencia de una base (por ejemplo, diisopropiletilamina, y similares). El grupo protector alfa-N-carbamoilo se elimina de la resina

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

Para la síntesis química, la síntesis de péptidos en fase sólida es de utilidad para los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética, ya que, de forma general, la síntesis en fase sólida es una solución directa con una excelente escalabilidad a escala comercial, y es generalmente compatible con los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética relativamente largos. La síntesis de péptidos en fase sólida puede llevarse a cabo con un sintetizador de péptidos automático (Modelo 430A, Applied Biosystems Inc., Foster City, Calif.) utilizando el sistema NMP/HOBt (Opción 1) y la química de tBoc o Fmoc (Véase el Manual del Usuario de Applied Biosystems para el sintetizador de péptidos ABI 430A, Versión 1.3B jul. 1, 1988, sección 6, págs. 49-70, Applied Biosystems, Inc., Foster City, Calif.) con protección de extremos. Las resinas peptídicas de Boc pueden escindirse con HF (-5°C a 0°C, 1 hora). El péptido puede extraerse de la resina alternativamente con agua y ácido acético, y los filtrados liofilizarse. Las resinas peptídicas de Fmoc pueden escindirse de acuerdo con los métodos normalizados (por ejemplo, Introduction to Cleavage Techniques, Applied Biosystems, Inc., 1990, págs. 6-12). Los péptidos pueden también ensamblarse utilizando un sintetizador de Advanced Chem Tech (Modelo MPS 350, Louisville, Ky.).

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

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

Varios vectores de expresión/sistemas hospedadores se pueden utilizar para contener y expresar una secuencia de codificación de un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética. Estas incluyen, aunque no de forma limitativa, microorganismos tales como bacterias transformadas con bacteriófagos recombinantes, plásmidos o vectores cósmidos de expresión de ADN; levaduras transformadas con vectores de expresión de levaduras; sistemas de células de insectos infectadas con vectores de expresión de virus (por ejemplo, baculovirus); sistemas de células vegetales transfectadas con vectores de expresión de virus (por ejemplo, virus del mosaico de la coliflor, CaMV; virus del mosaico del tabaco, VMT) o transformados con vectores de expresión bacteriana (por ejemplo, Ti o plásmido PBR322); o sistemas de células animales. células de mamíferos que son útiles en las producciones de proteínas recombinantes que incluyen, aunque no de forma limitativa, células VERO, células HeLa, líneas de células de ovario de hámster chino (CHO), células COS (tales como COS-7), WI 38, BHK, HepG2, 3T3, RIN, MDCK, A549, PC 12, K562 y 293. Se describen en el presente documento los protocolos ilustrativos para la expresión recombinante de la proteína y/o se conocen en la técnica.

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

La presente invención proporciona también procesos para la producción de ADN recombinante de los presentes polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética. se proporciona un proceso para producir los polipéptidos

diseñados mediante ingeniería genética a partir de una célula hospedadora que contiene ácidos nucleicos que codifican el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética que comprende: (a) cultivar la célula hospedadora que contiene los polinucleótidos que codifican el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética en condiciones que faciliten la expresión de la molécula de ADN; y (b) obtener el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética.

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

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

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

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

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

55 Como alternativa, el ADN que codifica un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética puede clonarse en un vector de expresión de baculovirus, por ejemplo, pVL1393 (PharMingen, San Diego, California). Este vector que codifica el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética se utiliza a continuación según las directrices del fabricante (PharMingen) o técnicas conocidas para infectar células de *Spodoptera frugiperda*, que han crecido por ejemplo en medio sf9 exento de proteína, y para producir la proteína recombinante. La proteína se purifica y se concentra a partir del medio usando métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, una columna de heparina-Sepharose (Pharmacia, Piscataway, New Jersey) y columnas secuenciales de dimensionamiento molecular (Amicon, Beverly, Massachusetts), y resuspenderse en la solución adecuada, por ejemplo, PBS. Se puede usar el análisis mediante SDS-PAGE para caracterizar la proteína, por ejemplo, mostrando una única banda que confirma el tamaño del polipéptido diseñado mediante ingeniería genética deseado, así como un análisis completo de la secuencia de aminoácidos, por ejemplo, secuenciación Edman en un secuenciador de péptidos Proton 2090, o confirmación de la secuencia de su extremo N.

Por ejemplo, la secuencia de ADN que codifica el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética maduro previsto se puede clonar en un plásmido que contiene un promotor deseado y, opcionalmente, una secuencia líder (véase, por ejemplo, Better et al., 1988, Science 240:1041-1043). La secuencia de esta construcción se puede confirmar mediante secuenciación automatizada. El plásmido se transforma a continuación en *E. coli*, cepa MC1061, utilizando procedimientos normalizados que emplean la incubación con CaCl<sub>2</sub> y un tratamiento de choque térmico de las bacterias (Sambrook et al., *Id.*). Las bacterias transformadas se hacen crecer en medio LB suplementado con carbenicilina, y la producción de la proteína expresada se induce por el crecimiento en un medio adecuado. Si está presente, la secuencia líder afectará la secreción del polipéptido diseñado mediante ingeniería genética maduro y se va a escindir durante la secreción. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética recombinante secretado se purifica a partir del medio de cultivo bacteriano mediante el método descrito en el presente documento.

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

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

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

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

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

seleccionaron líneas de células para la expresión de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética mediante ELISA o Western blot, y las líneas de células de alta expresión se expandieron para un crecimiento a gran escala.

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

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

25 Los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética de la presente invención pueden producirse utilizando una combinación de síntesis de péptidos automatizada y técnicas recombinantes. Por ejemplo, cualquiera o ambas de la leptina; un análogo de leptina, un fragmento activo de leptina, o un derivado de leptina; y un ABD; y opcionalmente un enlazador; empleado en la preparación de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética como se divulga en el presente documento puede prepararse de forma sintética o recombinante utilizando métodos conocidos  
30 en la materia, tales como "ligadura química natural" y variaciones conocidas de la misma en las que se forma un enlace amida uniendo los compuestos precursores. Véase por ejemplo la patente de Estados Unidos N.º 6.326.468. Como alternativa, por ejemplo, un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de la presente invención puede contener una combinación de modificaciones incluyendo delección, sustitución, inserción y derivatización mediante PEGilación (u otro resto, por ejemplo, polímero, cadena de acilo graso, amidación en el extremo C). Dicho polipéptido quimérico puede producirse en etapas. En la primera etapa, un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética intermedio que contiene las modificaciones de delección, sustitución, inserción, y cualquier combinación de los mismos, puede producirse como se describe mediante técnicas recombinantes. A continuación, después de una etapa de purificación opcional como se describe en el presente documento, el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética intermedio se PEGila (o se somete a otra derivatización química, por ejemplo, acilación, amidación en el extremo C) a través de modificación química con un reactivo de PEGilación adecuado (por ejemplo, de NeKtar Transforming Therapeutics, San Carlos, California) para dar como resultado el derivado de polipéptido diseñado mediante ingeniería genética deseado. El experto en la técnica apreciará que el procedimiento anteriormente descrito puede generalizarse para aplicar un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética que contiene una combinación de modificaciones seleccionadas entre delección, sustitución, inserción, derivatización, y  
45 otros medios de modificación bien conocidos en la materia y contemplados por la presente invención.

La amidación en el extremo C puede conseguirse mediante el uso de un precursor extendido en el extremo C del aminoácido glicina, sintetizado por ejemplo en levadura (por ejemplo, Pichia) como proteína de fusión del factor alfa que se secretará en el medio de cultivo. Tras la purificación, la glicina del extremo C del precursor del polipéptido diseñado mediante ingeniería genética puede convertirse en amida mediante amidación enzimática, por ejemplo, monooxigenasa que amida la peptidilglicina alfa (PAM). Véase, por ejemplo, Cooper et al., 1989, Biochem. Biophys. Acta, 1014:247-258. Véase también la patente de los Estados Unidos 6319685, que enseña métodos para la amidación enzimática, incluyendo una enzima que amida alfa procedente de rata que es suficientemente pura en la enzima que amida alfa para presentar una actividad específica de al menos aproximadamente 25 mU por mg de proteína, y que está suficientemente exenta de impurezas proteolíticas para ser adecuada para el uso con sustratos purificados a partir de fuentes naturales o producidos mediante técnicas de ADN recombinante.  
50

Los péptidos pueden purificarse mediante cualquiera de numerosos métodos conocidos en la materia, incluyendo como se describe en el presente documento. En un método, los péptidos se purifican mediante RP-HPLC (preparativa y analítica) usando un sistema Delta Prep 3000 de Waters. Una columna preparativa C4, C8 o C18 (10 m, 2,2X25 cm; Vydac, Hesperia, Calif.) puede utilizarse para aislar péptidos, y la pureza puede determinarse utilizando una columna analítica C4, C8 o C18 (5m, 0,46X25 cm; Vydac). Se pueden suministrar disolventes (A= TFA al 0,1 % en agua y B= TFA al 0,1 % en CH<sub>3</sub>CN) a la columna analítica a un caudal de 1,0 ml/min y a la columna preparativa a 15 ml/min. Se pueden llevar a cabo los análisis de aminoácidos en el sistema Waters Pico Tag y procesarse utilizando el programa Maxima. Los péptidos se pueden hidrolizar mediante hidrólisis ácida en fase vapor (115°C, 20-24 h). Se pueden derivatizar los hidrolizados y analizarse mediante métodos normalizados (Cohen et al,  
65

THE PICO TAG METHOD: A MANUAL OF ADVANCED TECHNIQUES FOR AMINO ACID ANALYSIS, págs. 11-52, Millipore Corporation, Milford, Mass. (1989)). El método del bombardeo rápido de átomos se puede llevar a cabo mediante M-Scan, Incorporated (West Chester, Pa.). Se puede llevar a cabo la calibración de la masa utilizando yoduro de cesio o yoduro de cesio/glicerol. Se puede llevar a cabo el análisis de ionización por desorción de plasma utilizando la detección por tiempo de vuelo en un espectrómetro de masas Bio-Ion 20 de Applied Biosystems.

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

**Preparación de cuerpos de inclusión.** Para los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética que se encuentran en la fracción del cuerpo de inclusión, el siguiente procedimiento puede ser beneficioso. El aglomerado celular puede volverse a suspender en un mínimo de 100 ml de tampón de lisis para cada 50 ml de cultivo. Tras la adición de 30ml, se puede usar una pipeta de 10ml para resuspender, a continuación, el tubo se puede lavar con 70ml más. La solución de células resuspendidas se puede analizar varias veces, por ejemplo, 4 pases, mediante un microfluidizador a 100 PSI (min) teniendo cuidado de mantener la cámara en agua helada durante el proceso completo. La suspensión fluidizada puede centrifugarse a 14000 x g, 20 min (por ejemplo., JLA 10,5, 10.000rpm, usando botellas Nalgene® de 250 ml). El aglomerado de cuerpos de inclusión puede resuspenderse en hiele en tampón de lisis enfriado con una barrita agitadora y una placa de agitación durante 1 hora a 4°C tras perturbación con la punta de la pipeta. El aglomerado puede resuspenderse una segunda vez en H<sub>2</sub>O destilada con una barrita agitadora y una placa de agitación durante 1 hora a 4°C tras perturbación con una punta de pipeta, seguido por centrifugación a 14.000 x g, 15 min. El sobrenadante puede eliminarse y descartarse. El resultante puede almacenarse a -80°C.

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

#### IV. Métodos de uso y tratamiento de la enfermedad

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

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

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

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

La evidencia neuroanatómica y farmacológica apoya la evidencia de que las señales de energía y la homeostasis nutricional se integran en los núcleos del cerebro anterior y que el sistema control motor consumatorio reside en los núcleos del pedúnculo cerebral, probablemente, en regiones que rodean el núcleo motor del trigémino. Existe una conexión recíproca extensa entre el hipotálamo y el pedúnculo cerebral. Varios agentes terapéuticos anti-obesidad dirigidos contra el SNC (por ejemplo, pequeñas moléculas y péptidos) se centra predominantemente en los sustratos del cerebro anterior que residen en el hipotálamo y/o en los sustratos del rombencéfalo que residen en el pedúnculo cerebral.

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

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

**Diabetes y enfermedad cardiovascular.** La diabetes mellitus es reconocida como una enfermedad crónica compleja, en la que el 60 % a 70 % de todos los casos fatales entre pacientes diabéticos son un resultado de complicaciones cardiovasculares. La diabetes no se considera solo una enfermedad con un riesgo equivalente a una enfermedad cardíaca coronaria, sino que se identifica también como un predictor independiente de episodios

adversos, incluyendo infarto de miocardio recurrente, insuficiencia cardíaca congestiva, y muerte tras un incidente cardiovascular. Se esperaría que adopción de un control más estricto de la glucosa y un tratamiento agresivo de los factores de riesgo cardiovasculares que redujeran el riesgo de complicaciones de enfermedad cardíaca coronaria y que mejorasen la supervivencia global entre los pacientes diabéticos. Sin embargo, los pacientes diabéticos tienen dos o tres veces más probabilidades de experimentar un infarto de miocardio agudo que los pacientes no diabéticos, y los pacientes diabéticos viven ocho a treinta años menos que los pacientes no diabéticos.

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

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

Se ha notificado que la leptina puede tener un beneficio directo para tratar la diabetes, particularmente en la diabetes de tipo I y la diabetes de tipo II, con o sin la presencia de obesidad, y más concretamente en condiciones de bajo contenido de leptina sérica. Se ha notificado que la recuperación de leptina redujo o evitó la hiperinsulinemia, la resistencia a la insulina y la hiperglucemia en diversos modelos animales de diabetes de tipo 1 y 2 con o sin obesidad acompañante. Por ejemplo, altos niveles de leptina en plasma generados bien por administración farmacológica de leptina o bien con un tratamiento génico adenovírico redujeron la hiperglucemia y los aumentos asociados de los niveles de glucagón en plasma en diabetes inducida por STZ, a pesar de niveles persistentemente bajos de insulina.

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

Además, sin desear quedar ligados a teoría alguna, se cree que la deficiencia relativa de insulina en la diabetes de tipo 2, la toxicidad de la glucosa, y una carga aumentada de ácido graso libre hepático a través de una administración elevada de tejido adiposo intraabdominal mediante la vena porta, están implicados como posibles causas en los trastornos de hígado graso. De hecho, Se ha teorizado que el comportamiento de ingesta es el factor clave que impulsa el síndrome metabólico de obesidad con sus muchos corolarios, incluido NASH. En consecuencia, los tratamientos destinados a disminuir la captación de alimentos y aumentar el número de comidas pequeñas, como se ha demostrado en la diabetes de tipo 2, puede tratar y evitar eficazmente NASH. Los fármacos que estimulan la

secreción de insulina y la pérdida de peso, y que retrasan el vaciado gástrico son también eficaces para aumentar la tolerancia a la glucosa y de esta manera pueden mejorar el hígado graso con su correspondiente hiperinsulinemia. De esta manera, el uso de una leptina, análogo de leptina, por ejemplo, metreleptina, o un fragmento activo de la misma, puede ser también adecuado como una modalidad de tratamiento para esta dolencia. En consecuencia, los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética descritos en el presente documento que incluyen una leptina, análogo de leptina o uno de sus fragmentos activos, pueden ser útiles en el tratamiento de los trastornos del hígado graso.

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

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

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

En consecuencia, en un aspecto, se proporciona un método para tratar una enfermedad o trastorno en un sujeto. El sujeto necesita el tratamiento para la enfermedad o trastorno. La enfermedad o trastorno puede ser lipodistrofia, dislipidemia, hiperlipidemia, sobrepeso, obesidad, amenorrea hipotalámica, enfermedad de Alzheimer, deficiencia de leptina, enfermedad del hígado graso o diabetes (incluyendo de tipo I y tipo II). Las enfermedades y trastornos adicionales que se pueden tratar mediante los compuestos y métodos descritos en el presente documento incluyen la esteatohepatitis no alcohólica (NASH), y enfermedad del hígado graso no alcohólica (NAFLD), síndrome metabólico X y enfermedad de Huntington. El método de tratamiento incluye la administración al sujeto de un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética como se describe en el presente documento en una cantidad eficaz para el tratamiento de la enfermedad o trastorno. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética incluirá una leptina HD1, un fragmento de leptina o un análogo de leptina. En consecuencia, el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética puede tener una de las siguientes estructuras: ABD-HD1, HD1-ABD, ABD-L1-HD1 o HD1-L1-ABD.

En todas las realizaciones de tratamiento descritas en el presente documento, la leptina puede ser una leptina o metreleptina humana. En algunas realizaciones, el análogo de leptina tiene al menos 50 %, por ejemplo, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % o incluso más, de identidad con la leptina humana. En algunas realizaciones, el análogo de leptina tiene al menos 50 %, por ejemplo, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % o incluso más, de identidad con la leptina de ratón. En algunas realizaciones, el análogo de leptina tiene al menos 50 %, por ejemplo, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % o incluso más, de identidad con la leptina de platipus. En algunas realizaciones, el análogo de leptina tiene al menos 50 %, por ejemplo, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % o incluso más, de identidad con una leptina de pinnípedo marino. En algunas realizaciones, el análogo de leptina es leptina A100, A300 o A500.

## V. Ensayos

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

**Ingesta de alimento.** Sin desear quedar ligados a teoría alguna, se cree que la ingesta de alimentos es útil para evaluar la utilidad de un compuesto descrito en el presente documento. Por ejemplo, se sabe que numerosas patologías metabólicas están relacionadas con la ingesta de alimento (por ejemplo, diabetes, obesidad). En

consecuencia, se puede realizar un cribado inicial para determinar la medida en la que la ingesta de alimentos está modulada por la administración de los compuestos descritos en el presente documento, y un cribado inicial positivo puede ser de utilidad en el desarrollo posterior de un compuesto.

5 Están disponibles varios ensayos Ingesta de alimento para los expertos en la materia. Por ejemplo, en el "modelo de jaula doméstica" de ingesta de alimento así denominado, los sujetos (por ejemplo, ratas) se mantienen en su jaula doméstica, y se mide la ingesta de alimento junto con el peso total del sujeto tras la inyección del compuesto de ensayo. En el "modelo de patrones de alimentación" del ensayo de ingesta de alimento así denominado, los sujetos (por ejemplo, ratas) están habituados a la cámara de alimentación y a las inyecciones antes del ensayo. Tras la  
10 administración del compuesto de ensayo, los sujetos se colocan inmediatamente en la cámara de alimentación, y la ingesta de alimento se determina automáticamente como una función del tiempo (por ejemplo, intervalos de 1 min). Para ambos ensayos, el alimento es un pienso convencional o cualquiera de varios piensos (por ejemplo, con un alto contenido de grasa) conocido en la materia. En el ensayo denominado "ingesta de alimento de ratón", puede probarse un compuesto de ensayo para la supresión del apetito, o para un efecto de ganancia de peso corporal en ratones con obesidad inducida por dieta (DIO). En un ensayo de ingesta de alimento de ratón típico, los ratones NIH/Swiss hembras (3-24 semanas de edad) son grupos alojados con un ciclo de luz:oscuridad de 12:12 horas encendiendo la luz las 0600. El agua y la dieta convencional de pienso de ratón en forma de gránulos están disponibles a voluntad, excepto como se ha indicado. Los animales se hacen ayunar comenzando a  
15 aproximadamente las 1500 h, 1 día antes del experimento. La mañana del experimento, los animales se dividieron en grupos experimentales. En un estudio típico, n=4 jaulas con 3 ratones/jaula. A un tiempo=0 min, se administró a todos los animales una inyección intraperitoneal de vehículo o compuesto, normalmente en una cantidad que varía entre aproximadamente 10 nmol/kg a 75 nmol/kg, y se administra inmediatamente una cantidad prepesada (10-15 g) del pienso convencional. Se retiró el alimento y se pesaron en diferentes momentos, normalmente 30, 60, y 120 minutos, para determinar la cantidad de alimento consumido. Véanse, por ejemplo, Morley et al., 1994, Am. J. Physiol. 267:R178-R184). Se calculó la ingesta de alimento sustrayendo el peso del alimento restante en el punto temporal, por ejemplo, 30, 60, 120, 180 y/o 240 minutos, procedente del peso del alimento proporcionado inicialmente a un tiempo=0. los efectos significativos del tratamiento se identifican mediante ANOVA (p<0,05). Donde existe una diferencia significativa, se compararon las medias del ensayo con la media del control utilizando la prueba de Dunnett (Prism v. 2,01, GraphPad Software Inc., San Diego, Calif.). Para cualquier ensayo descrito en el presente  
25 documento, la administración del compuesto de ensayo puede ser por cualquier medio, incluyendo inyección (por ejemplo, subcutánea, intraperitoneal, y similares), oral, u otros métodos de administración conocidos en la técnica.

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

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

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

## 60 VI. Composiciones farmacéuticas

En un aspecto, se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos descritos en el presente documento combinados junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, transportador). La expresión "transportador farmacéuticamente aceptable", tal como se usa en el presente documento, se refiere a excipientes farmacéuticos, por ejemplo, sustancias transportadoras farmacéutica y fisiológicamente aceptables, tanto orgánicas como inorgánicas, para aplicación enteral o parenteral que no deletéreamente que no reaccionen de forma

perjudicial con el principio activo. Los transportadores farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen agua, soluciones salinas (por ejemplo, solución de Ringer y similares), alcoholes, aceites, gelatinas, o carbohidratos tales como lactosa, amilosa o almidón, ésteres de ácido graso, hidroximetilcelulosa, y polivinilpirrolidina. Dichas preparaciones se pueden esterilizar y, si se desea, mezclarse con agentes auxiliares tales como lubricantes, conservantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, sales para variar la presión osmótica, tampones, colorantes, y/o sustancias aromáticas y similares que no reaccionen perjudicialmente con los compuestos de la invención.

En un aspecto adicional, se proporciona una composición farmacéutica que incluye un compuesto polipeptídico diseñado mediante ingeniería genética como se describe en el presente documento junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable. En una realización, la composición farmacéutica es una composición farmacéutica oral, como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una composición farmacéutica duradera. El término "duradero" en el contexto de administración de una composición farmacéutica se refiere a la duración de la acción. En consecuencia, una composición farmacéutica duradera puede administrarse a intervalos de, por ejemplo, 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 12 h, 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 1 mes o incluso más tiempo. En una realización preferida, la administración es una vez al día (es decir, "una vez al día"). En realizaciones más preferidas, la administración es una vez a la semana (es decir, "una vez semanalmente").

## A. Métodos

Los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética descritos en el presente documento se pueden administrar solos o se pueden administrar conjuntamente a un sujeto. Se entiende que la coadministración incluye la administración simultánea o secuencial de los compuestos individualmente o en combinación (más de un compuesto). Por ejemplo, se ha descubierto que la obesidad se puede tratar ventajosamente con un tratamiento combinado que incluye una leptina (por ejemplo, metreleptina) y algunos otros compuestos contra la obesidad. Véase, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos publicadas, N.º 2008/0207512. En consecuencia, un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética descrito en el presente documento que comprende un ABD y una leptina podría ser útil para el tratamiento de la obesidad. Como alternativa, los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética individuales se pueden tener que administrar simultáneamente con otros agentes contra la obesidad, tales como exenatida o liraglutida.

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

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

KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY (SEQ ID NO:108); amilina humana:  
 KCNTATCATQRLANFLVHSSNFGAILSSSTNVGSNTY (SEQ ID NO:109); Pramlintida:  
 KCNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILPPTNVGSNTY (SEQ ID NO:110).

**Davalintida.** Davalintida, también conocida como "AC-2307", es un potente agonista de la amilina útil en el tratamiento de varias indicaciones patológicas. Véanse los documentos WO 2006/083254 y WO 2007/114838. Davalintida es un polipéptido quimérico, que tiene una región de bucle en el extremo N como la de amilina o calcitonina y análogos de las mismas, una región de alfa hélice de al menos una parte de la región alfa helicoidal de la calcitonina o análogos de la misma o una región alfa helicoidal que tiene una porción de una región alfa helicoidal de amilina y una región alfa helicoidal de amilina o análogos de las mismas, y una región de cola en el extremo C de la amilina o calcitonina. Las secuencias de la calcitonina humana, calcitonina de salmón y davalintida se indican a continuación: ser humano: CGNLSTCMLGTYTQDFNKFHTF-PQTAIGVGAP (SEQ ID NO:111); calcitonina de salmón: CSNLSTCVLGKLSQELHKLQTYPRNTGSGTP (SEQ ID NO:112); davalintida: KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGGSNTY (SEQ ID NO:113).

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

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

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

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

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

los compuestos agonistas de amilina adecuados e ilustrativos también se describen en la publicación de patente de Estados Unidos WO2010/085700.

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



En la Fórmula (I), X' es hidrógeno, un grupo protector del extremo N, o un enlazador a un resto potenciador de la duración. Xaa<sup>1</sup> es Lys o un enlace, Xaa<sup>21</sup> es Lys, Cys, o Asn, Xaa<sup>24</sup> es Lys, Cys, o Gly, Xaa<sup>25</sup> es Lys, Cys, o Pro, Xaa<sup>26</sup> es Lys, Cys, o Ile, Xaa<sup>27</sup> es Lys, Cys, o Leu, Xaa<sup>28</sup> es Lys, Cys, o Pro, Xaa<sup>29</sup> es Lys, Cys, o Pro y Xaa<sup>31</sup> es Lys, Cys, o Asn. Adicionalmente en relación con la Formulación (I), la variable X representa una funcionalidad del extremo C (por ejemplo, una protección del extremo C). X es amino sustituido o no sustituido, alquilamino sustituido o no sustituido, dialquilamino sustituido o no sustituido, cicloalquilamino sustituido o no sustituido, arilamino sustituido o no sustituido, aralquilamino sustituido o no sustituido, alquiloxi sustituido o no sustituido, ariloxi sustituido o no

sustituido, aralquiloxi sustituido o no sustituido, o hidroxilo. Si el extremo C del componente polipeptídico con la secuencia de los restos 1-37 de Fórmula (I) está protegido con una funcionalidad X, entonces X es preferentemente amina formando de esta forma una amida en el extremo C. En algunas realizaciones, hasta un 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 % o incluso el 50 % de los aminoácidos de los restos 1-37 de la Fórmula (I) están eliminados o sustituidos en un componente polipeptídico de acuerdo con la fórmula (I). En algunas realizaciones, El componente análogo de amilina tiene 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o incluso 16 sustituciones de aminoácidos con respecto a la secuencia de aminoácidos definida en la Fórmula (I). En algunas realizaciones, El análogo de amilina puede tener una secuencia que tiene una identidad de secuencia definida con respecto a los restos 1-37 de la secuencia de aminoácidos de acuerdo con la Fórmula (I). En algunas realizaciones, la identidad de secuencia entre un análogo de amilina descrito en el presente documento y los restos 1-37 de la Fórmula (I) es un 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o incluso mayor. En algunas realizaciones, hasta un 50 %, 45 %, 40 %, 35 %, 30 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 5 % o incluso menos de los aminoácidos definidos en los restos 1-37 de la Fórmula (I) pueden estar eliminados o sustituidos por un aminoácido diferente. En algunas realizaciones, la identidad de secuencia está comprendida en el intervalo de 75 %-100 %. En algunas realizaciones, la identidad de secuencia está comprendida en el intervalo de 80 %-90 %. En algunas realizaciones, la identidad de secuencia es al menos del 75 %. En algunas realizaciones, el análogo de amilina tiene la secuencia de los restos 1-37 de la Fórmula (I).

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

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

**Tabla 3. Polipéptidos componentes de utilidad en los compuestos descritos en el presente documento.**

Comp.	Descripción (secuencia)
101	KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO:110)
102	CNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO:801) ([desLys <sup>1</sup> ]-Comp 101)
103	KCNTATCATQRLANFLVRSSKNLGPVLPPTNVGSNTY-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO:802)
104	CNTATCATQRLANFLVRSSKNLGPVLPPTNVGSNTY-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO:803) ([desLys <sup>1</sup> ]-Comp 103)
105	KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO:804)
106	CNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO:805) ([desLys <sup>1</sup> ]-Comp 105)
107	KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTKVGSTY-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO:806)
108	CNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTKVGSTY-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO:807) ([desLys <sup>1</sup> ]-Comp 107)
109	KCNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILPPTNVGSNTY-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO:808)
110	CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILPPTNVGSNTY-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO:809) ([desLys <sup>1</sup> ]-Comp 109)
111	CNTATCATQRLANFLVHSSKNFGPILPPTNVGSNTY-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO:810)
112	CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILPPTNVGSNTY-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO:811)
113	CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILPPTKVGSTY-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO:812)
114	CNTATCATQRLANFLVHSSNFKPILPPTNVGSNTY-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO:813)
115	CNTATCATQRLANFLVHSSNFGKILPPTNVGSNTY-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO:814)
116	CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPIKPPTNVGSNTY-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO:815)
117	CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILKPTNVGSNTY-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO:816)
118	CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILPKTNVGSNTY-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO:817)

- Los términos "enlazador" y similares, en el contexto de la unión de restos potenciadores de la duración a un componente polipeptídico en un conjugado de amilina polipeptídico descrito en el presente documento, significa una especie divalente (-L-) unida covalentemente a su vez a un componente polipeptídico que tiene una valencia disponible para la unión, y a un resto potenciador de la duración que tiene una valencia disponible para la unión. El sitio de unión disponible en el componente polipeptídico es convenientemente la cadena lateral de un resto (por ejemplo, lisina, cisteína, ácido aspártico, y homólogos de los mismos). En algunas realizaciones, El sitio de unión disponible sobre el componente polipeptídico es la cadena secundaria de una lisina o en un resto cisteína. En algunas realizaciones, el sitio de unión disponible sobre el componente polipeptídico es la amina del extremo N. En algunas realizaciones, el sitio de unión disponible sobre el componente polipeptídico es el carboxilo del extremo N. En algunas realizaciones, El sitio de unión disponible sobre el componente polipeptídico es un átomo de la estructura principal del mismo. Tal como se usa en el presente documento, la expresión "resto de aminoácido enlazador" significa un resto de aminoácido comprendido entre los restos 1-37 de Fórmula (I) al que se une un resto potenciador de la duración, opcionalmente mediante un enlazador.
- En algunas realizaciones, se proporcionan compuestos que tienen un enlazador unido covalentemente a un componente polipeptídico con un resto potenciador de la duración. El enlazador es opcional; es decir, cualquier enlazador puede ser simplemente un enlace. En algunas realizaciones, el enlazador se une a la cadena lateral del componente polipeptídico. En algunas realizaciones, el enlazador se une a un átomo de la estructura principal del componente polipeptídico.
- En otro aspecto, se proporciona un conjugado de amilina polipeptídico, que es un derivado de pramlintida con la SEQ ID NO:110 o un análogo del mismo, en el que el resto de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys<sup>1</sup>) y un resto de aminoácido en la posición 2 a 37 se ha sustituido por un resto de lisina o un resto de cisteína y en el que dicho resto de lisina o resto de cisteína está unido a un polímero de polietilenglicol, opcionalmente mediante un enlazador, en el que la numeración de los aminoácidos sigue la numeración de aminoácidos de la SEQ ID NO:110.
- En otro aspecto, la invención se refiere a un conjugado de amilina polipeptídico, que es un derivado de pramlintida con la SEQ ID NO:110 o un análogo del mismo, en el que el resto de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys<sup>1</sup>) y en el que un resto de aminoácido en una cualquiera de la posición 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 31, 32, 33, 34, 35, 36, o 37 está sustituido por un resto de lisina y en el que dicho resto de lisina está unido a un polímero de polietilenglicol, opcionalmente mediante un enlazador.
- En otro aspecto, la invención se refiere a un conjugado de amilina polipeptídico, que es un derivado de pramlintida con la SEQ ID NO:110 o un análogo del mismo, en el que el resto de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys<sup>1</sup>) y en el que un resto de aminoácido en una cualquiera de la posición 21, 24-29, o 31 está sustituido por un resto de lisina y en el que dicho resto de lisina está unido a un polímero de polietilenglicol, opcionalmente mediante un enlazador.
- En otro aspecto, la invención se refiere a un conjugado de amilina polipeptídico, que es un derivado de pramlintida con la SEQ ID NO:110 o un análogo del mismo, en el que el resto de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys<sup>1</sup>) y en el que un resto de aminoácido en la posición 21 está sustituido por un resto de lisina y en el que dicho resto de lisina está unido a un polímero de polietilenglicol, opcionalmente mediante un enlazador.
- En otro aspecto, la invención se refiere a un conjugado de amilina polipeptídico, que es un derivado de pramlintida con la SEQ ID NO:110 o un análogo del mismo, en el que el resto de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys<sup>1</sup>) y en el que un resto de aminoácido en la posición 24 está sustituido por un resto de lisina y en el que dicho resto de lisina está unido a un polímero de polietilenglicol, opcionalmente mediante un enlazador.
- En otro aspecto, la invención se refiere a un conjugado de amilina polipeptídico, que es un derivado de pramlintida con la SEQ ID NO:110 o un análogo del mismo, en el que el resto de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys<sup>1</sup>) y en el que un resto de aminoácido en la posición 25 está sustituido por un resto de lisina y en el que dicho resto de lisina está unido a un polímero de polietilenglicol, opcionalmente mediante un enlazador.
- En otro aspecto, la invención se refiere a un conjugado de amilina polipeptídico, que es un derivado de pramlintida con la SEQ ID NO:110 o un análogo del mismo, en el que el resto de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys<sup>1</sup>) y en el que un resto de aminoácido en la posición 26 está sustituido por un resto de lisina y en el que dicho resto de lisina está unido a un polímero de polietilenglicol, opcionalmente mediante un enlazador.
- En otro aspecto, la invención se refiere a un conjugado de amilina polipeptídico, que es un derivado de pramlintida con la SEQ ID NO:110 o un análogo del mismo, en el que el resto de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys<sup>1</sup>) y en el que un resto de aminoácido en la posición 27 está sustituido por un resto de lisina y en el que dicho resto de lisina está unido a un polímero de polietilenglicol, opcionalmente mediante un enlazador.

En otro aspecto, la invención se refiere a un conjugado de amilina polipeptídico, que es un derivado de pramlintida con la SEQ ID NO:110 o un análogo del mismo, en el que el resto de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys<sup>1</sup>) y en el que un resto de aminoácido en la posición 28 está sustituido por un resto de lisina y en el que dicho resto de lisina está unido a un polímero de polietilenglicol, opcionalmente mediante un enlazador.

5

En otro aspecto, la invención se refiere a un conjugado de amilina polipeptídico, que es un derivado de pramlintida con la SEQ ID NO:110 o un análogo del mismo, en el que el resto de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys<sup>1</sup>) y en el que un resto de aminoácido en la posición 29 está sustituido por un resto de lisina y en el que dicho resto de lisina está unido a un polímero de polietilenglicol, opcionalmente mediante un enlazador.

10

En otro aspecto, la invención se refiere a un conjugado de amilina polipeptídico, que es un derivado de pramlintida con la SEQ ID NO:110 o un análogo del mismo, en el que el resto de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys<sup>1</sup>) y en el que un resto de aminoácido en la posición 31 está sustituido por un resto de lisina y en el que dicho resto de lisina está unido a un polímero de polietilenglicol, opcionalmente mediante un enlazador.

15

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

20

25

En algunas realizaciones, El resto potenciador de la duración unido incluye un polietilenglicol. El polietilenglicol ("PEG") se ha usado en intentos de obtener polipéptidos de utilidad terapéutica. Véase, por ejemplo, Zalipsky, S., 1995, *Bioconjugate Chemistry*, 6:150-165; Mehvar, R., 2000, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 3:125-136. Como apreciará el experto en la técnica, la estructura principal de PEG [(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>, n: número de monómeros de repetición] es flexible y anfífila. Sin desear quedar ligado a teoría alguna o mecanismo de acción, se cree que una molécula o resto larga similar a PEG queda fuertemente hidratada y en rápido movimiento cuando se encuentra en un medio acuoso. Se cree que este movimiento rápido hace que el PEG rellene un volumen elevado y evite la aproximación e interferencia de otras moléculas. Como resultado, cuando se une a otra entidad química (como un péptido), las cadenas de polímero PEG pueden proteger dicha entidad química de la respuesta inmunitaria y otros mecanismos de aclaramiento. Como resultado, la pegilación puede llevar a mejorar la eficacia y la seguridad de los fármacos mediante la optimización de la farmacocinética, biodisponibilidad aumentada, y una menor inmunogenicidad y frecuencia de dosificación. "Pegilación" se refiere en el sentido habitual a la conjugación de un resto PEG con otro compuesto. Por ejemplo, se ha demostrado que la unión de PEG proteger las proteínas contra la proteólisis. Véase, por ejemplo, Blomhoff, H. K. et al., 1983, *Biochim Biophys Acta*, 757:202-208. Salvo que se indique otra cosa de forma expresa, los términos "PEG", "polímero de polietilenglicol" y similares se refieren a un polímero de polietilenglicol y derivados de los mismos, incluido metoxi-PEG (mPEG).

30

35

40

45

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

50

55

60

En algunas realizaciones, Un resto PEG en un conjugado de amilina polipeptídico descrito en el presente documento puede tener un peso molecular nominal comprendido en un intervalo especificado. Como es de uso habitual en la materia, el tamaño del resto de PEG se indica por la referencia el peso molecular nominal, que se proporciona de forma típica en kilodaltons (kD). El peso molecular se calcula en varias maneras conocidas en la materia, que incluye

65

el número, peso, viscosidad y peso molecular promedio "Z". Se entiende que los polímeros, tales como PEG y similares, existen como una distribución de peso moleculares alrededor de un valor promedio nominal.

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

Las moléculas de PEG útiles para la derivatización de polipéptidos se clasifican normalmente en clases lineales, ramificadas y de Warwick (es decir, PolyPEG®) de PEG, como se conoce en la materia. Salvo que se indique otra cosa de forma expresa, los restos de PEG descritos en el presente documento son PEG lineales. Además, las expresiones "dos brazos ramificados" "forma de Y" y el enlazador se refieren a restos PEG ramificados, como se conoce en la materia. El término "Warwick" en el contexto de los PEG, también se conoce como PEG "comb" o "tipo comb", se refiere a varias PEG multibrazo unido a una cadena principal, normalmente de polimetacrilato, como se conoce en la materia. Con respecto a la nomenclatura incluidas las convenciones empleadas en la tabla proporcionada en el presente documento, en ausencia de indicación de lo contrario, un resto PEG está unido a la cadena principal del péptido. Por ejemplo, el **Comp. 119** es el resultado de la conjugación del mPEG40KD con el átomo de nitrógeno del extremo N del **Comp. 101**. De manera similar, el **Comp. 120** es el resultado de la conjugación del mPEG40KD con el átomo de nitrógeno del extremo N del **Comp. 102**. Se pueden usar las abreviaturas convencionales para aminoácidos de una sola letra, así como las abreviaturas convencionales de tres letras. Por ejemplo, el **Comp. 124** es un análogo del **Comp. 110** en el que el resto en la posición 26 del **Comp. 109** está sustituido por lisina, y la funcionalidad amina colgante de la lisina 26 (es decir, K<sup>26</sup>) está conjugada con un resto PEG40KD. Los compuestos ilustrativos se proporcionan en la Tabla 4 siguiente.

**Tabla 4. Compuestos pegilados**

Comp.	Descripción
119	mPEG40KD- <b>Comp. 101</b>
120	mPEG40KD- <b>Comp. 102</b>
121	[K <sup>21</sup> (mPEG40KD)]- <b>Comp. 103</b>
122	[K <sup>21</sup> (mPEG40KD)]- <b>Comp. 104</b>
123	[K <sup>26</sup> (mPEG40KD)]- <b>Comp. 105</b>
124	[K <sup>26</sup> (mPEG40KD)]- <b>Comp. 106</b>
125	[K <sup>31</sup> mPEG40KD]- <b>Comp. 107</b>
126	[K <sup>31</sup> (mPEG40KD)]- <b>Comp. 108</b>
127	[K <sup>26</sup> (en forma de Y--mPEG40KD)]- <b>Comp. 105</b>
128	[K <sup>21</sup> (mPEG40KD)]- <b>Comp. 111</b>
129	[K <sup>26</sup> (mPEG40KD)]- <b>Comp. 112</b>
130	[K <sup>31</sup> (mPEG40KD)]- <b>Comp. 113</b>
131	[K <sup>26</sup> (en forma de Y--mPEG40KD)]- <b>Comp. 112</b>
132	[K <sup>24</sup> (mPEG40KD)]- <b>Comp. 114</b>
133	[K <sup>25</sup> (mPEG40KD)]- <b>Comp. 115</b>
134	[K <sup>21</sup> (mPEG40KD)]- <b>Comp. 116</b>
135	[K <sup>28</sup> (mPEG40KD)]- <b>Comp. 117</b>
Comp.	Descripción
136	[K <sup>29</sup> (mPEG40KD)]- <b>Comp. 118</b>

Las amilinas y análogos de amilina a los que se une un resto químico son derivados de amilina. Los derivados de amilinas pueden constituir amilinas en las cuales se ha realizado una modificación química de uno o más de sus grupos aminoácidos secundarios, átomos de α-carbono, grupo amino terminal, o grupo de ácido carboxílico terminal. Una modificación química incluye, pero no de forma limitativa, unir uno o más restos químicos, creación de nuevos enlaces, y eliminación de uno o más restos químicos. Las modificaciones en los grupos secundarios de aminoácidos incluyen, sin limitación, alquilación, acilación, formación del éster, formación de la amida, acoplamiento de la maleimida, acilación de ε-amino de lisina, grupos, N-alquilación de la arginina, histidina, o lisina, alquilación de grupos ácido glutámico o aspártico o carboxílico, y desaminación de glutamina o asparagina. Las modificaciones del amino terminal incluyen, sin limitación, el desamino, alquilo N inferior, dialquilo N inferior, y modificaciones de N-acilo. Las modificaciones del amino terminal incluyen, sin limitación, el desamino, alquilo N inferior, dialquilo N inferior, y modificaciones de N-acilo, tales como alquilacilos, alquilacilos ramificados, alquilaril-acilos. Las modificaciones en el grupo carboxi terminal incluyen, sin limitación, la amida, alquil amida inferior, dialquil amida, arilamida, alquilarilamida y modificaciones en el éster de alquilo inferior. el alquilo inferior es un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>. Además, uno o más grupos secundarios, o grupos terminales, pueden protegerse con grupos protectores conocidos del químico normalmente experto en síntesis. El átomo de carbono α de un aminoácido puede estar monometilado o

dimetilado.

Los derivados de amilina incluyen amilinas y análogos de amilinas conjugados a una o más moléculas poliméricas solubles en agua, tales como polietilenglicol ("PEG"), como se ha descrito anteriormente, o cadenas de ácidos grasos de diversas longitudes (por ejemplo, estearilo, palmitoílo, octanoílo), mediante la adición de poliaminoácidos, tales como poli-his, poli-arg, poli-lis, y poli-ala, o mediante la adición de sustituyentes de moléculas pequeñas que incluyen alquilos cortos y alquilos restringidos (por ejemplo, ramificados, cíclicos, condensados, adamantilo), y grupos aromáticos. En algunas realizaciones, Las moléculas poliméricas solubles en agua pueden tener un peso molecular comprendido entre aproximadamente 500 Daltons a aproximadamente 60.000 Daltons. Véase, por ejemplo, publicaciones de patente PCT con número WO 2007/104789, WO 2009/034119, y WO 2010/046357 para los derivados de amilina adecuados para el uso como agentes antiobesidad en combinación con los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética de la invención.

Dichas conjugaciones poliméricas pueden producirse singularmente en el extremo N o el extremo C o en las cadenas laterales de restos de aminoácidos en la secuencia de una amilina o análogo de amilina como se divulga en el presente documento. Como alternativa, existen múltiples sitios de derivatización a lo largo de la secuencia de aminoácidos de dicha amilina o análogo de amilina. La sustitución de uno o más aminoácidos con lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, o cisteína puede proporcionar sitios adicionales para la derivatización. En algunas realizaciones, una amilina o análogo de amilina puede conjugarse a una, dos, o tres moléculas poliméricas.

En algunas realizaciones, las moléculas poliméricas solubles en agua se unen a un grupo amino, carboxilo, o tiol, y pueden estar unidas al extremo N o C, o a las cadenas secundarias de lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, o cisteína. Como alternativa, las moléculas poliméricas solubles en agua pueden unirse a grupos diamina y dicarboxílicos. En algunas realizaciones, una amilina o análogo de amilina se conjuga a una, dos, o tres moléculas de PEG a través de un grupo amino épsilon o un aminoácido lisina.

Se ha descubierto de forma sorprendente que los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética de la invención proporcionan efectos antiobesidad sinérgicos beneficiosos a sujetos moderadamente obesos (IMC igual o mayor de 30) y a sujetos gravemente obesos (IMC igual o mayor de 35) cuando se administran en combinación con determinados compuestos diferentes antiobesidad. Como se ha descrito anteriormente en, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos publicadas, N.º 2008/0207512, se ha encontrado que existe un estado de resistencia a la leptina en sujetos obesos. Véanse también, por ejemplo, Tenenbaum, D., HHMI Bulletin, págs. 25-27 (marzo de 2003); Chicurel, M., Nature, Vol. 404, págs. 538-540 (2000); Scarpace et al., Diabetologia, Vol. 48, págs. 1075-1083 (2005); y Bays et al., Obesity Research, Vol. 12,(8), págs. 1197-1211 (2004). Esta resistencia a la leptina, caracterizada al menos en parte por la presencia de niveles de leptina en suero anómalamente elevados en sujetos obesos, hace a estos sujetos incapaces de responder eficazmente a la leptina, tanto si se administra de forma endógena como exógena. Se había encontrado previamente que esta resistencia a la leptina podría superarse en sujetos moderadamente obesos, con un tratamiento combinado incluyendo una leptina (por ejemplo, metreleptina) y algunos otros compuestos contra la obesidad. Véase, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos publicadas, N.º 2008/0207512. se ha encontrado además que los efectos antiobesidad del tratamiento combinado de leptina están ausentes en sujetos con un IMC elevado gravemente obesos, debido presumiblemente a una grave resistencia a la leptina. Los inventores han descubierto de forma sorprendente que los compuestos diseñados mediante ingeniería genética de la invención son capaces de superar incluso la resistencia grave a la leptina cuando se administran en combinación con determinados compuestos antiobesidad diferentes. En consecuencia, Se proporcionan también por la invención métodos de tratar la obesidad y dolencias, trastornos y enfermedades relacionadas con la obesidad en sujetos incluyendo sujetos con un IMC elevado, mediante la administración de al menos dos agentes antiobesidad diferentes, en el que un agente antiobesidad es un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética y otro agente antiobesidad es una amilina, un análogo de amilina, un agonista de amilina, o un derivado de amilina (es decir, un agente de amilina).

En determinadas realizaciones, la invención proporciona métodos de tratar la obesidad en sujetos que necesitan de la misma que comprenden la administración de un primer agente antiobesidad seleccionado entre un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de la invención en combinación con un segundo agente antiobesidad seleccionado entre una amilina, un análogo de amilina, un agonista de amilina, o un derivado de amilina en el que la administración de los agentes da como resultado un efecto sinérgico en comparación con la administración de cualquier agente solo.

En un aspecto, los métodos de la invención proporcionan un efecto antiobesidad sinérgico entre los agentes administrados. En consecuencia, En determinadas realizaciones, la administración de una combinación de agentes antiobesidad da como resultado un efecto, por ejemplo, una reducción en la disponibilidad de nutrientes, reducción en el peso corporal, reducción en la ingesta de alimento, aumento en el metabolismo, que es mayor que la combinación de los resultados de administración del agente antiobesidad solo (monoterapia).

Se entiende que "disponibilidad reducida de nutrientes" incluye cualquier medio por el cual el cuerpo reduce los nutrientes disponibles en el cuerpo para almacenar como grasa. En otras palabras, reducir la disponibilidad de nutrientes puede ser por medios que incluyen, aunque no de forma limitativa, reducción del apetito, aumento de la

saciedad, influir sobre la aversión de la elección/gusto por el alimento, aumento del metabolismo, y/o disminución o inhibición de la absorción de alimentos. Los mecanismos ilustrativos que pueden verse afectados incluyen el vaciamiento gástrico retrasados o la disminución de la absorción de alimentos en el intestino.

5 Tal como se usa en el presente documento, un "sujeto que lo necesita" incluye sujetos que tienen sobrepeso, obesos, o deseos de perder peso. Los sujetos obesos incluyen la población de IMC bajo moderadamente obesa y la población de IMC alto gravemente obesa. Además, los sujetos que son resistentes a la insulina, intolerantes a la glucosa, o que tienen cualquier forma de diabetes mellitus (por ejemplo, diabetes de tipo 1, de tipo 2 o gestacional) pueden beneficiarse de los métodos de la invención.

10 Por "índice metabólico" se entiende la cantidad de energía liberada/utilizada por unidad de tiempo. Se puede estimar el metabolismo por unidad de tiempo mediante el consumo de alimento, energía liberada como calor, u oxígeno utilizado en los procesos metabólicos. Es generalmente deseable tener un mayor índice metabólico cuando se quiere perder peso. Por ejemplo, una persona con un índice metabólico elevado puede ser capaz de utilizar más energía (por ejemplo, el cuerpo quema más calorías) para llevar a cabo una actividad que una persona con un índice metabólico bajo para esta actividad.

15 Tal como se usa en el presente documento, "masa magra" o "masa corporal magra" se refiere al músculo y al hueso. Masa corporal magra no indica necesariamente la masa exenta de grasa. La masa corporal magra contiene un pequeño porcentaje de grasa (groseramente un 3 %) en el sistema nervioso central (cerebro y médula espinal), médula ósea de los huesos, y órganos internos. La masa corporal magra se mide en términos de densidad. Los métodos de medir la masa grasa y la masa magra incluyen, aunque no de forma limitativa, el pesaje bajo el agua, el desplazamiento del aire en el pletismógrafo, rayos X, exploraciones DEXA, exploraciones de IRM y TC En determinadas realizaciones, la masa grasa y la masa magra se miden por pesaje bajo el agua, como se conoce en la técnica.

Por "distribución grasa" se entiende la localización de depósitos de grasa en el cuerpo. Dichas localizaciones de deposición de la grasa incluyen, por ejemplo, subcutánea, visceral y ectópica.

30 Por "grasa subcutánea" se entiende el depósito de lípidos exactamente por debajo de la superficie de la piel. La cantidad de grasa subcutánea en un sujeto puede medirse utilizando cualquier método disponible para la medición de la grasa subcutánea. Los métodos para medir la grasa subcutánea que son conocidos en la técnica, por ejemplo, los que se describen en la patente de Estados Unidos n.º 6.530.886.

35 Por "grasa visceral" se entiende el depósito de grasa como tejido adiposo abdominal. La grasa visceral rodea los órganos vitales y puede metabolizarse por el hígado para producir el colesterol en la sangre. La grasa visceral se ha asociado con un aumento de los riesgos de dolencias tales como síndrome de ovarios poliquísticos, síndrome metabólico y enfermedades cardiovasculares.

40 Por "almacenamiento de grasa ectópica" se entiende depósitos de lípidos en y alrededor de tejidos y órganos que constituyen la masa corporal magra (por ejemplo, músculo esquelético, corazón, hígado, páncreas, riñones, vasos sanguíneos). En general, el almacenamiento de grasa ectópica es una acumulación de lípidos fuera de los depósitos de tejido adiposo clásico en el cuerpo.

45 Tal como se usa en el presente documento, y es bien entendido en la técnica, "tratamiento" es una solución para obtener resultados beneficiosos o deseados, incluyendo resultados clínicos "Tratar" o "paliar" una enfermedad, trastorno, o dolencia significa que la extensión y/o manifestaciones clínicas indeseables de una dolencia, trastorno, o estado de enfermedad están disminuidos y/o el curso de tiempo de la progresión se retarda o alarga, en comparación con no tratar el trastorno. Por ejemplo, para tratar la obesidad, una disminución en el peso corporal, *por ejemplo*, al menos una disminución del 5 % en el peso corporal, es un ejemplo de un resultado de tratamiento deseable. Para los fines de la presente invención, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, aunque no de forma limitativa, alivio o mejora de uno o más síntomas, disminución de la extensión de una enfermedad, estado de la enfermedad estabilizado (es decir, sin empeoramiento), retraso o ralentización en la evolución de la enfermedad, la mejora o alivio de la patología, y remisión (tanto total o parcial), ya sea detectable o indetectable.

50 "Tratamiento" también significa prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibiera tratamiento. Además, tratar no se produce necesariamente por la administración de una dosis, sino que se produce a menudo tras la administración de una serie de dosis. De esta manera, una cantidad terapéuticamente eficaz, una cantidad suficiente para paliar, o una cantidad suficiente para tratar una enfermedad, trastorno, o dolencia puede administrarse en una o más administraciones.

60 Tal como se usa en el presente documento, el término "cantidad terapéuticamente eficaz" significa la cantidad de los compuestos activos en la composición que estimularan la respuesta biológica o médica en un tejido, sistema, sujeto, o ser humano que está siendo investigado por el investigador, veterinario, doctor en medicina u otro especialista clínico, que incluye el alivio de los síntomas del trastorno que se está tratando. Los novedosos métodos de tratamiento de la presente invención son para los trastornos conocidos por los expertos en la materia.

65

Tal como se usa en el presente documento, el término "cantidad profilácticamente eficaz" significa la cantidad de los compuestos activos en la composición que estimularán la respuesta biológica o médica en un tejido, sistema, sujeto, o ser humano que está siendo investigado por el investigador, veterinario, doctor en medicina u otro especialista clínico, para evitar el inicio de la obesidad o un trastorno relacionado con la obesidad, dolencia o enfermedad en sujetos con riesgo de obesidad o de trastorno relacionado con la obesidad, dolencia o enfermedad.

En otro aspecto de la presente invención, se proporcionan métodos para reducir el riesgo de desarrollar trastornos metabólicos, donde el método comprende administrar al sujeto una combinación de agentes antiobesidad en cantidades eficaces para reducir el peso de un sujeto.

En algunas realizaciones de la invención, se usan los métodos de la invención para aumentar el índice metabólico en un sujeto, disminuir una reducción en el índice metabólico en un sujeto, o preservar el índice metabólico en un sujeto. En determinadas realizaciones, el índice metabólico puede implicar el uso preferente de la grasa del cuerpo como una fuente de energía sobre el tejido corporal magro. En un aspecto, la masa corporal magra no disminuye tras la administración de la combinación de agentes antiobesidad. En otro aspecto, una reducción en la masa corporal magra está disminuida o evitada tras la administración de la combinación de agentes antiobesidad. En otro aspecto más, la masa corporal magra está aumentada tras la administración de la combinación de agentes antiobesidad. Dicha preferencia por la grasa como la fuente de energía puede determinarse comparando la cantidad de tejido graso a tejido corporal magro, discernido por la medición del peso corporal total y el contenido de grasa al comienzo y al final del periodo de tratamiento. Un aumento en el índice metabólico es un nivel mayor del uso de calorías u otra fuente de energía por un sujeto durante un periodo de tiempo en comparación con el nivel de uso de calorías u otra fuente de energía por el sujeto durante otro periodo de tiempo bajo condiciones sustancialmente similares o idénticas sin la administración de la combinación de agentes antiobesidad. En determinadas realizaciones, el índice metabólico está aumentado al menos aproximadamente un 5 % en un sujeto, en otras realizaciones, el índice metabólico está aumentado al menos aproximadamente un 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, o 35 % en un sujeto en comparación con el nivel de uso de calorías u otra fuente de energía por el sujeto durante otros periodos de tiempo bajo condiciones sustancialmente similares o idénticas sin administración de la combinación de agentes antiobesidad. El aumento del índice metabólico puede medirse utilizando un calorímetro respiratorio, por ejemplo. Una cantidad eficaz de los agentes antiobesidad como se usa en estas realizaciones es una cantidad de cada agente eficaz para aumentar el índice metabólico en un sujeto cuando se administra en combinación en comparación con un sujeto que no recibe los agentes o solo uno de los agentes.

En otra realización, se proporciona un método para reducir una disminución en el índice metabólico en un sujeto. Dicha disminución en el índice metabólico puede ser el resultado de cualquier dolencia o régimen nutricional o físico que conduzca a una reducción en el índice metabólico, por ejemplo, debido a una dieta de calorías reducida, una dieta restringida, o una pérdida de peso. Una dieta restringida incluye tolerancias o prohibiciones, o ambas, sobre los tipos de alimento o las cantidades de alimento o ambas permitidas en la dieta, no necesariamente basada en calorías. Por ejemplo, como en dietas individuales, el cuerpo compensa con un índice metabólico reducido basado en una ingesta calórica inferior. Esencialmente, el cuerpo regula por defecto el requerimiento de alimento, subsistiendo por tanto con menos alimento. A medida que la dieta continúa, se reduce el umbral para la ingesta calórica. Cuando la dieta ha finalizado, el individuo normalmente gana peso mientras come una dieta normal debido a la disminución del umbral de la ingesta calórica y a un índice metabólico basal inferior (NIH Technology Assessment Conference Panel (1992) Ann. Intern. Med. 116:942-949; Wadden (1993) Ann. Intern. Med. 119:688-693). En un aspecto, se proporciona un método para reducir la pérdida de índice metabólico en un sujeto, donde la pérdida de índice metabólico es el resultado de una dieta de calorías reducida o pérdida de peso. Utilizando dicho método, la reducción del índice metabólico en el sujeto disminuye en aproximadamente un 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, o 95 % en un sujeto. Para dichos métodos, puede ser deseable administrar la combinación de agentes antiobesidad en el momento que la dolencia o el régimen nutricional o físico se inicia, que conduce a una pérdida o reducción en el índice metabólico. Sin embargo, se contempla también que la administración de los agentes comienza antes de que se inicie el régimen nutricional o físico. En un caso, el índice metabólico que utiliza un calorímetro respiratorio. Una cantidad eficaz de los agentes antiobesidad de como se usa en esta realización es una cantidad de cada agente eficaz para disminuir la reducción del índice metabólico en un sujeto cuando se administra en combinación.

En otro aspecto, se proporcionan los métodos para reducir la meseta metabólica, donde un método comprende administrar cantidades eficaces de agentes antiobesidad en combinación a un sujeto. En determinadas realizaciones, el sujeto está perdiendo peso, o tiene una pérdida de peso, por ejemplo, debido a una dieta de calorías reducida, aumento del ejercicio o una combinación de los mismos. Por "meseta metabólica" se entiende intervalos de tiempo de índice metabólico estacionario mientras que el cuerpo se ajusta a cambios en la entrada calórica o de energía. Los cambios en la entrada o gasto calórico pueden ser el resultado de, por ejemplo, dietas calóricas reducidas o aumento en la actividad física. Se puede observar dicha meseta, por ejemplo, durante un régimen de pérdida de peso cuando la pérdida de peso se suaviza o detiene. En determinadas realizaciones, el método de la presente invención reduce la duración de la meseta metabólica en un sujeto en comparación con la duración de las mesetas metabólicas en un sujeto idéntico de otra forma durante el mismo periodo de tiempo bajo condiciones sustancialmente similares o idénticas sin administración de la combinación de agentes antiobesidad. En otras realizaciones, el método de la presente invención reduce la frecuencia de la meseta metabólica en un sujeto en

comparación con la frecuencia de las mesetas metabólicas en un sujeto idéntico de otra forma durante el mismo periodo de tiempo bajo condiciones sustancialmente similares o idénticas sin administración de la combinación de agentes antiobesidad. En otras realizaciones adicionales, el método de la presente invención retrasa la duración de las mesetas metabólicas en comparación con el inicio de la meseta metabólica en un sujeto idéntico de otra forma durante el mismo periodo de tiempo bajo condiciones sustancialmente similares o idénticas sin administración de la combinación de agentes antiobesidad. En determinadas realizaciones, se identifican mesetas metabólicas mediante periodos de graficación de pérdida reducida de peso o sin pérdida de peso. En determinadas realizaciones, se reduce al menos una meseta metabólica. En otras realizaciones, al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, o diez mesetas metabólicas se reducen. En otro aspecto, las mesetas metabólicas se retrasan un día en comparación con un sujeto al que o se ha administrado la combinación de agentes antiobesidad en condiciones idénticas o similares. En otros aspectos, la meseta metabólica se retrasa 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 1 semana, 10 días, 2 semanas o 3 semanas en un sujeto.

En otras realizaciones más adicionales, se proporciona un método para preservar el índice metabólico en un sujeto. En determinadas realizaciones, el sujeto puede estar en riesgo de perder índice metabólico, por ejemplo, debido a la iniciación de una dieta baja en calorías, dieta restringida, o pérdida de peso prevista. La preservación del índice metabólico es el mantenimiento del nivel del uso de calorías u otra fuente de energía por un sujeto durante un periodo de tiempo comparado con el nivel de uso de calorías u otra fuente de energía por parte de otro sujeto por otra parte idéntico durante el mismo periodo de tiempo en condiciones prácticamente similares o idénticas sin administración de la combinación de agentes antiobesidad. En un aspecto, el índice metabólico se mantiene dentro de un 15 % del índice metabólico del sujeto antes de que se inicie el evento que da como resultado la disminución en el índice metabólico. En otros aspectos, el índice metabólico se mantiene en un 10 %, en un 7 %, en un 5 %, en un 3 % o menos del índice metabólico del sujeto. En un aspecto, la combinación de agentes antiobesidad se administra al inicio de una dieta baja en calorías, dieta restringida, o pauta de ejercicio.

Los índices metabólicos se pueden evaluar usando cualquier método disponible para determinar dichos índices, por ejemplo, usando un respirador calorimétrico. Dichos métodos y dispositivos para ensayar los índices metabólicos son conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en las patentes de Estados Unidos con números 4.572.208, 4.856.531, 6.468.222, 6.616.615, 6.013.009, y 6.475.158. Como alternativa, el índice metabólico de un animal se puede evaluar midiendo la cantidad de tejido magro versus tejido graso catabolizado por el animal después del periodo de dieta. De esta manera, el peso corporal total y el contenido de grasa se pueden medir al finalizar el periodo de dieta. En ratas, un método frecuentemente usado para determinar la grasa corporal total es extirpar quirúrgicamente y pesar la almohadilla de grasa retroperitoneal, un cuerpo de grasa situado en el retroperitoneo, la zona entre la pared abdominal posterior y el peritoneo parietal posterior. El peso de la almohadilla se considera directamente relacionado con el porcentaje de grasa corporal del animal. Puesto que la relación entre el peso corporal y la grasa corporal es lineal, los animales obesos tienen proporcionalmente mayor porcentaje de grasa corporal y de peso de la almohadilla de grasa peritoneal.

En otro aspecto de la presente invención, se proporcionan métodos para reducir la masa grasa aumentando el índice metabólico en un sujeto, donde los métodos comprenden administrar una combinación de agentes antiobesidad en cantidades eficaces para reducir la masa grasa aumentando el índice metabólico del sujeto. La masa grasa se puede expresar como un porcentaje de la masa corporal total. En algunos aspectos, la masa grasa se reduce en al menos un 1 %, al menos un 5 %, al menos un 10 %, al menos un 15 %, al menos un 20 %, o al menos un 25 % durante el ciclo de tratamiento. En un aspecto, la masa magra del sujeto no disminuye durante el ciclo de tratamiento. En otro aspecto, la masa magra del sujeto se mantiene o aumenta durante el ciclo de tratamiento. En otro aspecto, el sujeto está en una dieta baja en calorías o con dieta restringida. Por "dieta baja en calorías" se entiende que el sujeto está ingiriendo menos calorías al día en comparación con la dieta normal del mismo sujeto. En un caso, el sujeto está consumiendo al menos 50 calorías menos al día. En otros casos, el sujeto está consumiendo al menos 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, o 1000 menos calorías al día.

En determinadas realizaciones de la presente invención, se proporciona un método para alterar la distribución de la grasa en un sujeto, donde el método comprende administrar una combinación de agentes antiobesidad en cantidades eficaces para alterar la distribución de la grasa en un sujeto. En un aspecto, la alteración da como resultado un aumento en el metabolismo de la grasa visceral o ectópica, o ambas, en el sujeto. En algunas realizaciones, los métodos implican el metabolismo de la grasa visceral o ectópica o ambas a una tasa de al menos aproximadamente un 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, o 50 % más que para la grasa subcutánea. En un aspecto, los métodos dan como resultado una distribución de grasa favorable. En determinadas realizaciones, la distribución de grasa favorable es un aumento en la proporción entre grasa subcutánea y grasa visceral, grasa ectópica, o ambas. En un aspecto, el método implica un aumento en la masa corporal magra, por ejemplo, como resultado de un aumento en la masa de células musculares.

En otras realizaciones, se proporcionan métodos para reducir la cantidad de grasa subcutánea en un sujeto, en el que el método comprende administrar, a un sujeto que lo necesita, una combinación de agentes antiobesidad en cantidades eficaces para reducir la cantidad de grasa subcutánea en el sujeto. En un caso, la cantidad de grasa subcutánea se reduce en un sujeto en al menos aproximadamente un 5 %. En otros casos, la cantidad de grasa subcutánea se reduce en al menos aproximadamente un 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, o 50 %, comparada

con el sujeto antes de la administración de los agentes antiobesidad.

Los métodos descritos en el presente documento se pueden usar para reducir la cantidad de grasa visceral en un sujeto, En un caso, la grasa visceral se reduce en un sujeto en al menos aproximadamente un 5 %. En otros casos, la grasa visceral se reduce en un sujeto en al menos aproximadamente un 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, o 50 %, comparada con el sujeto antes de la administración de la combinación de agentes antiobesidad. La grasa visceral se puede medir por cualquier medio disponible para determinar la cantidad de grasa visceral en un sujeto. Dichos métodos incluyen, por ejemplo, tomografía abdominal mediante una exploración por TC e IRM. Se describen otros métodos para determinar la grasa visceral en, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos con números 6.864.415, 6.850.797, y 6.487.445.

En determinadas realizaciones, se proporciona un método para prevenir la acumulación de grasa ectópica o de reducir la cantidad de grasa ectópica en un sujeto, en el que el método comprende administrar, a un sujeto que lo necesita, una combinación de agentes antiobesidad en cantidades eficaces para prevenir la acumulación de grasa ectópica o para reducir la cantidad de grasa ectópica del sujeto. En un caso, la cantidad de grasa ectópica se reduce en un sujeto en al menos aproximadamente un 5 % comparado con el sujeto antes de administrar la combinación de agentes antiobesidad. En otros casos, la cantidad de grasa ectópica se reduce en un sujeto en al menos aproximadamente un 10 %, o en al menos aproximadamente 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, o 50 %. Como alternativa, la cantidad de cantidad de grasa ectópica se reduce proporcionalmente en un 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, o 100 % en comparación con la grasa subcutánea de un sujeto. En un sujeto, la grasa ectópica se puede medir por cualquier método disponible para medir la grasa ectópica.

En otras realizaciones, se proporcionan métodos para producir una distribución de grasa más favorable en un sujeto, donde el método comprende administrar a un sujeto una combinación de agentes antiobesidad en cantidades eficaces para producir una distribución de grasa favorable. En determinadas realizaciones, la administración de una combinación de agentes antiobesidad reduce la cantidad de grasa visceral o grasa ectópica, o ambas, en un sujeto. Por ejemplo, la administración de una combinación de agentes antiobesidad, donde al menos un agente antiobesidad actúa sobre las estructuras del cerebro anterior implicadas en la modulación de la ingesta de alimento o del peso corporal o de ambos junto con la administración de al menos un agente antiobesidad que actúa sobre las estructuras del rombencéfalo implicadas en la modulación de la ingesta de alimento o del peso corporal, o de ambos. En determinadas realizaciones, los métodos reducen preferentemente la cantidad de grasa visceral o ectópica, o una combinación de ambas, respecto a la reducción de la grasa subcutánea. Dichos métodos dan como resultado una relación más alta de grasa subcutánea a grasa visceral o grasa ectópica. Dichas relaciones mejoradas pueden dar como resultado un menor riesgo en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, síndrome de ovarios poliquísticos, síndrome metabólico, o cualquier combinación de las mismas. En determinadas realizaciones, la grasa ectópica o visceral se metaboliza a una velocidad un 5 % superior a la grasa subcutánea. En otras realizaciones, la grasa ectópica o visceral se metaboliza a una velocidad al menos 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, o 100 % más que la grasa subcutánea.

En otro aspecto, los métodos de la invención incluyen el uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación de agentes antiobesidad administrados junto con glucocorticoesteroides. Los glucocorticoesteroides tienen el efecto adverso de aumentar la masa grasa y de reducir la masa magra. En consecuencia, se contempla que la combinación de agentes antiobesidad se pueda usar junto con glucocorticoesteroides en condiciones en las que el uso de glucocorticoesteroides sea beneficioso.

En otro aspecto más, los métodos de la invención incluyen el uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente antiobesidad o una combinación de agentes antiobesidad administrados junto con un agente terapéutico adicional seleccionado entre orlistat, fentermina, topiramato, CONTRAVE, y QNEXA. En algunas realizaciones, los métodos de la invención incluyen el uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de la invención junto con un agente terapéutico adicional seleccionado entre orlistat, fentermina, topiramato, CONTRAVE, y QNEXA. En otras realizaciones, los métodos de la invención incluyen el uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de una amilina, un análogo de amilina, un agonista de amilina, o un derivado de amilina junto con un agente terapéutico seleccionado entre orlistat, fentermina, topiramato, CONTRAVE, y QNEXA. En otras realizaciones, los métodos de la invención incluyen el uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto diseñado mediante ingeniería genética de la invención junto con un agente terapéutico adicional seleccionado entre orlistat, un análogo de amilina, un agonista de amilina, o un derivado de amilina y un agente terapéutico seleccionado entre orlistat, fentermina, topiramato, CONTRAVE, y QNEXA.

También se proporcionan métodos para reducir el peso en sujetos con obesidad mórbida, reduciendo en primer lugar el peso del sujeto hasta un nivel por debajo de la obesidad mórbida, a continuación administrar al sujeto una combinación de agentes antiobesidad en cantidades eficaces para reducir adicionalmente el peso del sujeto. Los métodos para reducir el peso de un sujeto hasta por debajo de la obesidad mórbida incluyen la reducción en la ingesta calórica, aumento de la actividad física, farmacoterapia, cirugía bariátrica, tal como la cirugía de derivación gástrica, o cualquier combinación de los métodos anteriores. En un aspecto, la administración de la combinación de agentes antiobesidad reduce adicionalmente el peso del sujeto. En otras realizaciones, se proporcionan métodos para reducir el índice de masa corporal en un sujeto que tiene un índice de masa corporal de 40 o menos, mediante

la administración de una combinación de agentes antiobesidad en cantidades eficaces para reducir adicionalmente el peso del sujeto.

5 Por reducción del peso, se entiende que el sujeto pierde una parte de su peso corporal total durante el ciclo de  
tratamiento, ya tenga el ciclo una duración de días, semanas, meses o años. Como alternativa, la reducción del peso  
se puede definir como una disminución en la proporción entre masa grasa y masa magra (en otras palabras, el  
sujeto ha perdido masa grasa, pero ha mantenido o aumentado la masa magra, sin necesidad de una  
10 correspondiente pérdida de peso corporal total). Una cantidad necesaria de los agentes antiobesidad administrados  
en combinación en estas realizaciones es una cantidad eficaz para reducir el peso corporal de un sujeto durante el  
ciclo de tratamiento, o como alternativa, una cantidad eficaz para reducir el porcentaje de masa grasa durante el  
ciclo de tratamiento. En determinadas realizaciones, el peso del sujeto se reduce, durante el ciclo de tratamiento, en  
al menos aproximadamente 1 %, en al menos aproximadamente 5 %, en al menos aproximadamente 10 %, en al  
menos aproximadamente 15 %, o en al menos aproximadamente 20 %. Como alternativa, el porcentaje de masa  
15 grasa del sujeto se reduce, durante el ciclo de tratamiento, en al menos un 1 %, al menos un 5 %, al menos un 10 %,  
al menos un 15 %, al menos un 20 %, o al menos del 25 %.

En determinadas realizaciones, los métodos para reducir el peso incluyen un cumplimiento mejorado del  
mantenimiento del peso. Sin desear quedar ligados a teoría alguna, la restauración de la sensibilidad a la leptina  
conseguida mediante la administración de los agentes antiobesidad que se describen en el presente documento  
20 supera un desafío crítico para los sujetos obesos. En los métodos de pérdida de peso anteriores, los niveles pueden  
seguir más altos de lo normal incluso con un peso corporal reducido, lo que dificulta que los sujetos mantengan la  
pérdida de peso. Los métodos descritos en el presente documento no solo incluyen métodos para reducir el peso,  
sino también el componente del cumplimiento mejorado del mantenimiento del peso.

25 En determinadas realizaciones, los métodos para reducir la disponibilidad de nutrientes, por ejemplo, reducir el peso,  
de un sujeto, comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de los agentes antiobesidad en una dosis en bolo  
un o más veces al día. Una dosis en bolo es una dosificación de medicina intermitente (en oposición a la infusión  
continua). Un sujeto puede recibir una o más dosis en bolo al día. La dosis en bolo puede ser la misma  
independientemente de cuando se administra al sujeto, o se puede ajustar de forma que el sujeto reciba una dosis  
30 en bolo más grande en determinados momentos del día, en comparación con otros. La administración de un agente  
en determinadas formulaciones, por ejemplo, formulaciones de liberación continua, una dosis en bolo se puede  
administrar con menor frecuencia, por ejemplo, una vez cada tres días, una vez a la semana, dos veces al mes, una  
vez al mes. Además, la separación temporal entre dosis en bolos es preferentemente lo suficientemente larga para  
permitir que el fármaco administrado en la dosis en bolo anterior se aclare del torrente sanguíneo del sujeto.

35 En otras realizaciones, los métodos para reducir la disponibilidad de nutrientes, por ejemplo, reducir el peso, en un  
sujeto, comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de los agentes antiobesidad en dosis continuas. Por  
dosis continua se pretende definir la infusión continua del fármaco mediante, por ejemplo, inyección intravenosa o un  
parche transdérmico. Como alternativa, una dosis continua se puede administrar por vía oral en forma de una  
40 cápsula o comprimido de liberación controlada que libera el fármaco en el sistema de un sujeto durante un periodo  
de tiempo. Cuando se administran mediante una dosis continua, el fármaco se libera durante un periodo de tiempo  
de aproximadamente 1 hora, en algunos casos, el fármaco se libera durante un periodo de tiempo de  
aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18, o 24 horas.

45 Por "administrados en combinación" se entiende que los agentes antiobesidad de administran en una única  
administración, simultáneamente o en dosis separadas, o administrarse secuencialmente. La administración  
secuencial se refiere a la administración de uno de los agentes antiobesidad antes o después de un agente  
antiobesidad. En determinadas realizaciones, el primer agente antiobesidad se administra aproximadamente 30  
minutos antes o después del al menos otro agente antiobesidad, en otras realizaciones, aproximadamente 1, 2, 3, 4,  
50 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, o 12 horas antes o después del al menos otro agente antiobesidad. Cualquiera de los agentes  
antiobesidad administrados se puede administrar como dosis en bolo o como dosis continua.

Además, en determinadas realizaciones, la administración de agentes inductores del peso en combinación da como  
resultado un efecto sinérgico en cualquiera de los aspectos de la invención. Además, en determinadas realizaciones,  
55 la administración de los agentes inductores del peso en combinación da como resultado menos necesidades de  
dosificación para al menos uno de los agentes, con el mismo efecto.

En consecuencia, una realización es un método para tratar la obesidad o reducir el peso corporal en un sujeto que lo  
necesita, que comprende administrar de forma periférica cantidades terapéuticamente eficaces de al menos dos  
60 agentes antiobesidad diferentes, en el que al menos un agente antiobesidad es una amilina, un análogo de amilina,  
un agonista de amilina, o un derivado de amilina) y al menos un agente antiobesidad es un polipéptido diseñado  
mediante ingeniería genética que comprende: un polipéptido de un dominio de unión a albúmina (ABD); y un primer  
dominio de hormona polipeptídico (HD1) seleccionado entre una leptina, un análogo de leptina, o un fragmento  
activo de la misma, y el sujeto reduce el peso corporal en al menos un 10 %, 12 %, 15 %, 20 %, 30 %, 40 % o  
65 incluso el 50 %.

Otras realizaciones incluyen lo siguiente.

- 5 Realización 1. Un método para tratar la obesidad en un sujeto que comprende administrar de forma periférica cantidades terapéuticamente eficaces de al menos dos agentes antiobesidad diferentes, en el que al menos un agente antiobesidad es una amilina, un análogo de amilina, un agonista de amilina, o un derivado de amilina (es decir, un agente de amilina) y al menos un agente antiobesidad es un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética que comprende: un polipéptido de un dominio de unión a albúmina (ABD); y un primer dominio de hormona polipeptídico (HD1) seleccionado entre una leptina, un análogo de leptina, o un fragmento activo de la misma.
- 10 Realización 2. Un método para reducir el peso corporal de un sujeto que comprende administrar de forma periférica cantidades - eficaces de al menos dos agentes antiobesidad diferentes, en el que al menos un agente antiobesidad es una amilina, un análogo de amilina, un agonista de amilina, o un derivado de amilina (es decir, un agente de amilina) y al menos un agente antiobesidad es un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética que comprende: un polipéptido de un dominio de unión a albúmina (ABD); y un primer dominio de hormona polipeptídico (HD1) seleccionado entre una leptina, un análogo de leptina, o un fragmento activo de la misma.
- 15 Realización 3. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 o 2 en el que el al menos un agente antiobesidad de amilina es un agonista de amilina.
- 20 Realización 4. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 3, en el que el agonista de amilina comprende un análogo o derivado de amilina.
- Realización 5. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 4, en el que el análogo o derivado de amilina comprende pramlintida.
- 25 Realización 6. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 5, en el que el análogo o derivado de es un compuesto divulgado en la Tabla 4.
- Realización 7. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 6, en el que el análogo o derivado de amilina comprende Des-Lys1-[Lys26(mPEG40K)]-Pramlintida.
- 30 Realización 8. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 7, en el que el ABD comprende uno cualquiera de los péptidos seleccionados entre el grupo que consiste en:
- 35 LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKSYINRAKTVEGVHTLIGHILAALP (SEQ ID NO:38),  
 LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVNALTHHILAALP (SEQ ID NO:39),  
 LAEAKVLANRELDKYGVSDYYKLNINRARTVEGVHALIDHILAALP (SEQ ID NO:40),  
 LAEAKVLANRELDKYGVSDYYKNIINRAKTVEGVRALKLHILAALP (SEQ ID NO:41),  
 LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKLNINRAKTVEGVSSLKGHILAALP (SEQ ID NO:42),  
 40 LAEAKVLANRELDKYGVSDYYKLNINKAKTVEGVEALTLHILAALP (SEQ ID NO:43),  
 LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKLNINRAKTVEGVDALIAHILAALP (SEQ ID NO:44),  
 LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKSLINRAKTVEGVDALTSHILAALP (SEQ ID NO:45),  
 LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKLNINRAKTVEGVNSLTSHILAALP (SEQ ID NO:46),  
 LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKVNINKAKTVEGVEALIADILAALP (SEQ ID NO:47),  
 45 LAEAKVLANRELDKYGVSDYYKLNINKAKTVEGVQALIAHILAALP (SEQ ID NO:48),  
 LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALKLHILAALP (SEQ ID NO:49),  
 LAEAKEDAIELDKYGVSDYYKLNINKAKTVEGVEALTLHILAALP (SEQ ID NO:50),  
 LAEAKEDAIELDKYGVSDYYKLNINKAKTVEGVEALISEILAALP (SEQ ID NO:51), y  
 LAEAKEDAIELDKYGVSDYYKRLISKAKTVEGVKALISEILAALP (SEQ ID NO:52).
- 50 Realización 9. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 8, en el que el HD1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145, SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 145, SEQ ID NO: 664, SEQ ID NO: 665, SEQ ID NO: 666, SEQ ID NO: 667, SEQ ID NO: 668, SEQ ID NO: 669, SEQ ID NO: 670, SEQ ID NO: 671, SEQ ID NO: 672, SEQ ID NO: 673, SEQ ID NO: 674, SEQ ID NO: 675, SEQ ID NO: 676, y la SEQ ID NO: 677.
- 60 Realización 10. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 9, en el que el HD1 es la SEQ ID NO:29.
- 65 Realización 11. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 10, en el que el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética comprende un compuesto divulgado en la Tabla 2.

- 5 Realización 12. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 11, en el que dicho polipéptido diseñado mediante ingeniería genética comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las: SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 106, y la SEQ ID NO: 107.
- 15 Realización 13. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 12, en el que el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:54.
- Realización 14. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 12, en el que el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:61.
- 20 Realización 15. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 14, en el que la cantidad eficaz del agente de amilina y la cantidad eficaz del polipéptido diseñado mediante ingeniería genética comprende una cantidad tal que se consigue una mayor cantidad de pérdida de peso cuando el agente de amilina se administra junto con el polipéptido diseñado mediante ingeniería genética a dicho sujeto que la cantidad de pérdida de peso alcanzada cuando se administra en solitario.
- 25 Realización 16. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 15, en el que los dos agentes se administran al mismo tiempo.
- Realización 17. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 16, en el que los dos agentes se mezclan entre sí.
- 30 Realización 18. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 17, en el que el IMC del sujeto es mayor ee 25.
- 35 Realización 19. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 18, en el que el IMC del sujeto es de 25 a 35.
- Realización 20. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 19, en el que el IMC del sujeto es de 25 a 40.
- 40 Realización 21. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 20, en el que el IMC del sujeto es de 25 a 45.
- Realización 22. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 21, en el que el IMC del sujeto es 35:45.
- 45 Realización 23. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 22, en el que el IMC del sujeto se redujo a menos de 30.
- 50 Realización 24. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 23, en el que el IMC del sujeto se redujo a menos de 25.
- Realización 25. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 24, en el que el IMC del sujeto se redujo a un nivel normal.
- 55 Realización 26. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 25, en el que la pérdida de peso se consigue en un plazo de 4 semanas de tratamiento.
- Realización 27. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 26, en el que la pérdida de peso se consigue en un plazo de 8 semanas de tratamiento.
- 60 Realización 28. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 27, en el que la pérdida de peso se consigue en un plazo de 12 semanas de tratamiento.
- 65 Realización 29. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 28, en el que la pérdida de peso se consigue en un plazo de 20 semanas de tratamiento.

Realización 30. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 29, en el que la pérdida de peso se consigue en un plazo de 24 semanas de tratamiento.

5 Realización 31. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 30, en el que el sujeto es un ser humano.

Realización 32. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 31, en el que el mamífero es un ser humano obeso.

10 Realización 33. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 32, en el que la pérdida de peso se redujo en al menos un 10 %.

15 Realización 34. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 33, en el que la pérdida de peso se redujo en al menos un 12 %.

Realización 35. El método de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 34, en el que la pérdida de peso se redujo en al menos un 15 %.

## 20 B. Formulaciones

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

25 En general, los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética se pueden formular en una composición farmacéutica estable y segura para su administración a un paciente. Las formulaciones farmacéuticas contempladas para su uso en los métodos de la invención pueden comprender de aproximadamente 0,01 al 1,0 % (p/v), en algunos casos del 0,05 al 1,0 %, del polipéptido diseñado mediante ingeniería genética, aproximadamente de 0,02 al 0.5 % (p/v) de un tampón acetato, fosfato, citrato o glutamato que permita un pH para la composición final de aproximadamente 3,0 a aproximadamente 7,0; de aproximadamente 1,0 al 10 % (p/v) de un tonificante de carbohidrato o de alcohol polihidroxilado y, opcionalmente, de aproximadamente 0,005 al 1,0 % (p/v) de un conservante seleccionado entre el grupo que consiste en m-cresol, alcohol bencílico, metilo, etilo, propil y butil parabenos y fenol. Dicho conservante se incluye de manera general si el péptido formulado va a incluirse en un producto de uso múltiple.

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

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

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

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

65

Como se describe en el presente documento, varios vehículos líquidos son adecuados para su uso en las formulaciones de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética, por ejemplo, agua, o una mezcla de disolvente acuoso/orgánico, o una suspensión.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Los envases son también una parte integrante de la formulación para inyección y se puede considerar como un componente, ya que no existe ningún envase sea totalmente inerte, o que no afecte de algún modo al líquido que contiene, especialmente si el líquido es acuoso. Por lo tanto, la selección de un envase para una inyección en particular debe basarse en la consideración de la composición del envase, así como la de la solución, y el tratamiento al que se va a someter. La adsorción del péptido en la superficie de vidrio del vial también se puede minimizar, en caso necesario, mediante el uso de vidrio de borosilicato, por ejemplo, vidrio de borosilicato Wheaton Tipo I n.º 33 (Wheaton Tipo ABD1-A500) o su equivalente (Wheaton Glass Co.). Otros proveedores de viales de vidrio de borosilicato y cartuchos similares adecuados para la fabricación incluyen Kimbel Glass Co., West Co., Bunder Glas GmbH y Form a Vitrum. Las propiedades biológicas y químicas del compuesto se pueden estabilizar mediante formulación y liofilización en un vial de vidrio de borosilicato Wheaton Tipo 1-33 para suero hasta una concentración final de 0,1 mg/ml y 10 mg/ml del compuesto en presencia de manitol al 5 %, y Tween 80 al 0,02 %.

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

Los tapones para viales de vidrio, tales como, West 4416/50, 4416/50 (cara de teflón) y 4406/40, Abbott 5139 o cualquier tapón equivalente se puede usar como el cierre de productos farmacéuticos para inyección. Para las formulaciones que comprenden agentes peptídicos contra la obesidad, estos tapones son compatibles tanto con el péptido como con el resto de componentes de la formulación. Los inventores también han descubierto que estos tapones pasan la prueba de integridad del tapón cuando se utilizan patrones de uso del paciente, por ejemplo, el tapón puede soportar al menos aproximadamente 100 inyecciones. Como alternativa, el péptido se puede liofilizar en el interior de viales, jeringas o cartuchos para su posterior reconstitución. Las formulaciones líquidas de la presente invención se pueden introducir en cartuchos de una o dos cámaras, o jeringas de una o dos cámaras.

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

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

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

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

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

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

La duración de la acción prolongada del polipéptido diseñado mediante ingeniería genética puede proporcionar la duración de acción prolongada deseada, tal como la administración una vez al día o una vez a la semana. La duración de la acción se puede seleccionar, por ejemplo, mediante la elección del ABD y su afinidad por la albúmina. Sin desear quedar ligados a teoría alguna, se cree que una mayor afinidad con la albúmina producirá tiempos de circulación más prolongados, lo que consigue una duración de la acción más prolongada. Tanto los efectos farmacodinámicos (efectos terapéuticos) como farmacocinéticos (propiedades del fármaco), o ambos, se pueden medir con el tiempo tras la administración, tales como niveles plasmáticos del fármaco, glucosa aguda o crónica, y/o reducción en la HbA1c, niveles de insulina en plasma, inhibición de la ingesta de alimento, o pérdida de peso.

### C. Dosificaciones eficaces

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento incluyen composiciones en las que el principio activo está contenido en una cantidad terapéuticamente eficaz, es decir, una cantidad eficaz para conseguir su fin previsto. La cantidad eficaz real para una aplicación en particular dependerá, *inter alia*, de la dolencia a tratar. Por ejemplo, cuando se administra en métodos para tratar la diabetes, dichas composiciones contendrán una cantidad de un principio activo eficaz para conseguir el resultado deseado (por ejemplo, disminuir la glucosa en sangre en ayunas de un sujeto). Cuando se administra en métodos para tratar la obesidad, dichas composiciones contendrán una cantidad de un principio activo eficaz para conseguir el resultado deseado (por ejemplo, disminuir la masa corporal).

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

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

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

Sin embargo, las dosis típicas pueden contener desde un límite inferior de aproximadamente 0,1 mg hasta un límite superior de aproximadamente 200 mg del compuesto farmacéutico al día. También se contemplan otros intervalos de dosificación tales como de 1 mg a 100 mg del compuesto por dosis, y de 3 mg a to 70 mg por dosis. Normalmente, la dosis de polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética de acción de duración larga se administra, por ejemplo, diariamente e incluso una vez a la semana. Las dosis diarias se pueden suministrar en dosis unitarias discretas, proporcionarse de forma continua en un periodo de 24 horas o cualquier parte de dichas 24 horas.

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

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

La sorprendente propiedad de ahorro de dosis de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética descritos en el presente documento, junto con su semivida en plasma y duración de la acción farmacológica, sorprendentemente largas, proporciona un agente farmacéutico superior. Las propiedades superiores incluyen ahorro de dosis, lo que permite una dosificación menor, por tanto, menos efecto adverso, o menos importantes, y un coste de la mercancía mejorado, y/o formulaciones más baratas y sencillas para su administración una vez al día o una vez a la semana, lo que no se consigue actualmente con los compuestos precursores en solitario.

#### D. Toxicidad

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

Sin desear quedar ligados a teoría alguna, se cree que la conjugación de un dominio de unión a albúmina ABD con un dominio de hormona como se describe en el presente documento, puede proporcionar una menor inmunogenicidad a juzgar por una reducción en las respuestas inmunitarias con respecto al dominio de hormona sin conjugación con ABD. Véase, *por ejemplo*, WO 2009/016043.

#### VII. Ejemplos

##### Ejemplo 1: Recuperación del polipéptido diseñado mediante ingeniería genética

Las secuencias de proteínas se diseñaron y se sometieron a traducción inversa usando un programa informático comercial para clonar la secuencia de ADN en un vector de expresión en *E. coli*. Las secuencias se obtuvieron bien

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

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

Las recuperaciones típicas del polipéptido diseñado por ingeniería genética para los métodos descritos en el presente documento se proporcionan en la Tabla 5 siguiente. Sorprendentemente, las recuperaciones observadas para los compuestos y los métodos de producción anteriormente descritos pueden ser significativamente mayores que las recuperaciones observadas en especies conjugadas anteriormente notificadas, por ejemplo, Fc-leptina y similares. Además, el dominio ABD extraño no afectó negativamente la expresión, recuperación, plegado, rendimiento o solubilidad de los polipéptidos diseñados por ingeniería genética recuperados, especialmente para los conjugados de leptina a pesar de las dificultades generalmente reconocidas para recuperar y manipular la leptina.

**Tabla 5. Recuperaciones de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética**

Comp.	Recuperación, mg/50 ml de cultivo
1	26,2
2	53,5
3	11,2
4	33,6

### 30 Ejemplo 2: Actividad funcional de leptina in vitro.

**Método.** Este ensayo mide la señalización del receptor después del tratamiento de células que expresan un receptor de leptina modificado. Se supone que las muestras de ensayo tenían una pureza del 100 % y se volvieron a disolver en 10X de concentración en tampón de estimulación. Un total de 90 ul de cada compuesto 10X se transfirió a una placa de pocillos profundos pp y se diluyó en serie (serie de 3 veces) con tampón de estimulación usando el Perkin Elmer Multiprobe® II y el programa "MSV\_Lep\_Func\_3-Fold\_Dil-Deepwell\_96.MPT." Las placas diluidas en serie se llevaron a la placa de estimulación de 96 pocillos que contenía  $2,5 \times 10^5$  aglomerados celulares de células Keptin de las que se había extraído la leptina durante 18 horas, como se conoce en la materia, usando el programa de ensayo MultiMek "MSV\_Lep\_Func\_200ul\_Transfer" que transfiere 200 ul de cada uno de los compuestos diluidos y mezcla las células. En ese momento, la placa se precintó con un cubreplaca adhesivo y se puso a 37C durante 30 minutos para permitir la estimulación de pSTAT5. Véase, por ejemplo, Crouse et al., 1998, J. Biol. Chem., 273:18365-18373. Después de la incubación, la placa de estimulación se volvió a centrifugar par reaglomerar las células, se eliminó el sobrenadante, y las células remanentes se congelaron a -80C (>30 minutos). Los lisados de células se prepararon por adición del 100ul de lisado 1x a los aglomerados celulares descongelados (kit de ensayo Perkin Elmer pSTAT5) con rotación a TA ambiente durante 20 minutos. Los lisados se clarificaron a 2500 rpm durante 20 minutos y se examinaron en con el kit de ensayo pSTAT5 a 4 ul/pocillo en una Proxiplate™ de 384 pocillos de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La señal PSTAT5 (RFU) se determinó con un lector de placas Packard Fusion  $\alpha$ -FP HT configurado para los parámetros de lectura Alfa. El ensayo se completó en placas Proxiplate™ de 384 pocillos con un volumen total de 11 ml con valores que representan el promedio de  $n = 4$  pocillos de dosis por punto de dosis.

Con referencia a la Tabla 6 siguiente, los Comps. C1-C6 son leptinas ilustrativas, análogos de leptinas y derivados de leptinas, como se describe en el presente documento. Específicamente, el Comp. C1 es la SEQ ID NO:20 que se describe en el presente documento. el Comp. C2 es la SEQ ID NO:30 (es decir, A200). el Comp. C3 es la SEQ ID NO:32, a la cual se ha unido un resto de polietilenglicol (PEG) de 20 kDa mediante el resto de cisteína en la posición 78. Los métodos para la conjugación de péptidos y proteínas con PEG son conocidos en la materia. El Comp. C4 es un derivado PEGilado de la SEQ ID NO:20, a la cual se ha unido un único resto de PEG de 20 kDa mediante el extremo N de la SEQ ID NO:20. El Comp. C5 es derivado de PEG doblemente PEGilado de la SEQ ID NO:32, a la que se ha unido un único resto de PEG de 20 kDa PEG mediante el resto de cisteína en la posición 78 y un único resto de PEG de 20 kDa mediante el extremo N. El Comp. C6 es un derivado PEGilado al que se ha unido un único

resto de PEG de 40 kDa mediante el extremo N.

**Resultados.** Tal como se establece en la Tabla 6 siguiente, los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética descritos en el presente documento (por ejemplo, Comps. 1-4) tiene una actividad funcional, e incluso superior, en el ensayo Obeca STAT5, en comparación con varias leptinas conjugadas.

**Tabla 6: Actividad funcional in vitro de las leptinas**

Comp.	Tipo de molécula o polipéptido diseñado por ingeniería genética	CE <sub>50</sub> nM (ensayo Obeca STAT5)
C1	SEQ ID NO:20	0,038
C2	SEQ ID NO: 30	0,855
C3	SEQ ID NO:32 - único PEG de 20 kDa mediante 78C	0,319
C4	SEQ ID NO:20 - único PEG de 20 kDa mediante el extremo N	0,275
C5	SEQ ID NO:32 PEGilado doble (20kDa PEG mediante 78C y PEG de 20 kDa mediante el extremo N)	2,262
C6	SEQ ID NO:20 - único PEG de 40 kDa mediante en el extremo N	0,355
1	SEQ ID NO:53	0,628
2	SEQ ID NO:54	0,530
3	SEQ ID NO:55	0,095
4	SEQ ID NO:56	0,103
9	SEQ ID NO:57	0,185
12	SEQ ID NO:58	1,052
13	SEQ ID NO:59	0,116
14	SEQ ID NO:60	0,406
15	SEQ ID NO:61	0,427
16	SEQ ID NO:62	0,411
17	SEQ ID NO:63	0,468
18	SEQ ID NO:64	0,322

**Ejemplo 3: Cambio en el peso corporal después de una sola administración.**

**Método.** Ratas Sprague Dawley magras se mantuvieron con una dieta baja en grasa durante el estudio. El peso corporal medio fue 319 gramos al comienzo del estudio. Los animales se dividieron en seis grupos (n=6/grupo). Cada grupo fue asignado para recibir uno de los siguientes: vehículo; Comp. 1 a 2,6 mg/kg en vehículo; Comp. 2 a 2,7 mg/kg en vehículo; Comp. 4 a 2,7 mg/kg en vehículo; Comp. 2 a 10 mg/kg en vehículo. Cada animal de ensayo recibió una única inyección subcutánea a tiempo=0. La ingesta de alimento y el cambio en el peso corporal (corregido para el % de vehículo) se controlaron durante 14 días, y los resultados se registraron como se muestra (Figuras 1A a 1B). Compuestos administrados: Vehículo (en recuadro); Comp. 1 a 2,6 mg/kg (triángulo con la punta hacia arriba); Comp. 2 a 2,7 mg/kg (triángulo con la punta hacia abajo); Comp. 4 a 2,7 mg/kg (rombo); Comp. C2 a 10 mg/kg (círculo).

**Resultados.** Tal como se representa gráficamente en las Figuras 1A a 1B, la administración de cada polipéptido diseñado por ingeniería genética dio como resultado una reducción de la ingesta de alimento y peso corporal. Todos los compuestos se proporcionaron en una dosis equimolar por peso de compuesto; todos los compuestos se proporcionaron a 120 nmol/kg (es decir, Comp. 1 a 2,6 mg/kg; Comp. 2 y Comp. 4 a 2,7 mg/kg; Comp. C2 a 10 mg/kg). Se debe indicar que el Comp. C2 (es decir, A200) es un dímero de dos restos, comprendiendo cada resto la región FC de IgG1 fusionada a leptina humana. El Comp. 1 y el Comp. 2 tienen una actividad similar al Comp. C2 que, por ser un dímero, tiene realmente dos leptinas por molécula. Aunque la eficacia (disminución del peso corporal) parece similar, es evidente que la tendencia favorece ambos polipéptidos diseñados por ingeniería genética con respecto al Comp. C2. Cuando se mira en una base molar de leptina, los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética son superiores para la inhibición tanto de la ingesta de alimento como del peso corporal, ya que el Comp. C2 tiene 2 moles de leptina en cada complejo Fc-leptina dimérico, mientras que cada mol de ABD-resto de leptina tiene solamente 1 mol de leptina.

Resultados anteriores han demostrado que se necesitan aproximadamente 500 ug/kg/día de un compuesto A500 para conseguir una pérdida de peso de 9-10 % a los 7 días cuando se administra mediante infusión continua a una rata magra. Esto da como resultado 2,5 mg de compuesto de leptina A500 a los 5 días y de 3,5 mg de compuesto a los 7 días. Puesto que el propio compuesto A500 tiene 16067,68 g/mol y el peso molecular del Comp. 2 es ~22.510 g/mol, se anticiparía la necesidad de 1,4X más veces proteína de fusión ABD durante los 5 días. En su lugar, solamente se administró 1,08x (2,7 mg/2,5 mg) más compuesto, lo que indica una sorprendente propiedad que ahorra dosis.

**Ejemplo 4: Cambio en el peso corporal después de una sola administración Comp. 2.**

**Método.** Ratas Sprague Dawley magras se mantuvieron con una dieta baja en grasa durante el estudio. El peso corporal medio fue 324 gramos al comienzo del estudio. Los animales se dividieron en cuatro grupos (n=6/grupo). Cada grupo fue asignado para recibir uno de los siguientes: vehículo; Comp. 2 a 0,3 mg/kg en vehículo; Comp. 2 a 1,0 mg/kg en vehículo; Comp. 2 a 3,0 mg/kg en vehículo. Cada animal de ensayo recibió una única inyección subcutánea a tiempo=0. La ingesta de alimento y el cambio en el peso corporal (corregido para el % de vehículo) se controlaron durante 14 días, y los resultados se registraron como se muestra (Figuras 2A a 2B). Compuestos administrados: Vehículo (en recuadro); Comp. 2 a 0,3 mg/kg (triángulo con la punta hacia arriba); Comp. 2 a 1,0 mg/kg (triángulo con la punta hacia abajo); Comp. 2 a 3,0 mg/kg (rombo).

**Resultados.** Tal como se representa gráficamente en las Figuras 2A a 2B, la administración a todas las concentraciones del polipéptido diseñado por ingeniería genética Comp. 2 dio como resultado una reducción de la ingesta de alimento y peso corporal. Se observa una respuesta a la dosis en la Figura 2B.

**Ejemplo 5: Cambio en el peso corporal después de una sola administración del Comp. 2.**

**Método.** Ratas Sprague Dawley magras se mantuvieron con una dieta baja en grasa durante el estudio. El peso corporal medio fue 324 gramos al comienzo del estudio. Los animales se dividieron en cuatro grupos (n=6/grupo). Cada grupo fue asignado para recibir uno de los siguientes: vehículo; Comp. C2 a 1,1 mg/kg en vehículo; Comp. C2 a 3,3 mg/kg en vehículo; Comp. C2 a 11,1 mg/kg en vehículo. Cada animal de ensayo recibió una única inyección subcutánea a tiempo=0. La ingesta de alimento y el cambio en el peso corporal (corregido para el % de vehículo) se controlaron durante 14 días, y los resultados se registraron como se muestra (Figuras 3A a 3B). Compuestos administrados: Vehículo (en recuadro); Comp. C2 a 1,1 mg/kg (círculo); Comp. C2 a 3,3 mg/kg (recuadro); Comp. C2 a 11,1 mg/kg (triángulo con la punta hacia arriba).

**Resultados.** Tal como se representa gráficamente en las Figuras 3A a 3B, la administración a todas las concentraciones del Comp. C2 de control dio como resultado una reducción de la ingesta de alimento y peso corporal.

**Ejemplo 6: Cambio en el peso corporal después de una sola administración del Comp. 6.**

**Método.** Ratas Sprague Dawley magras se mantuvieron con una dieta baja en grasa durante el estudio. El peso corporal medio fue 324 gramos al comienzo del estudio. Los animales se dividieron en dos grupos (n=6/grupo). Cada grupo fue asignado para recibir uno de los siguientes: vehículo; Comp. C6 a 2,2 mg/kg en vehículo. Cada animal de ensayo recibió una única inyección subcutánea a tiempo=0. La ingesta de alimento y el cambio en el peso corporal (corregido para el % de vehículo) se controlaron, y los resultados se registraron como se muestra (Figuras 4A a 4B)). Compuestos administrados: Vehículo (en recuadro); Comp. C6 a 2,2 mg/kg (triángulo con la punta hacia abajo).

**Resultados.** Tal como se representa gráficamente en las Figuras 4A a 4B, la administración a todas las concentraciones del Comp. C6 de control dio como resultado una reducción de la ingesta de alimento y peso corporal.

**Ejemplo 7: Cambio en el peso corporal de ratas DIO:**

**Método.** Ratas Sprague Dawley propensas a obesidad inducida por la dieta (DIO) con un peso medio aproximado de 500 gramos recibieron una inyección IP con compuestos de ensayo y de control en el día 0 y día 7 (n=6 por compuesto). El compuesto de ensayo fue la SEQ ID NO:54 administrado a 1,3 mg/kg/semana en vehículo. El peso corporal y la ingesta de alimento se midieron en múltiples puntos (días 0, 4, 7, 12 y 14 d) durante el periodo del estudio. Compuestos administrados: Vehículo (en recuadro); SEQ ID NO:54 a 1,3 mg/kg en vehículo (triángulo con punta hacia arriba).

**Resultados.** Los resultados, representados gráficamente en la Figura 5, demostraron que la inyección IP en intervalos semanales dio como resultado una pérdida de peso del 3 % después de 7 días tal como se había observado anteriormente a esta dosis. Tras una segunda inyección, las ratas continuaron perdiendo peso, dando como resultado una pérdida de peso corporal acumulada corregida para el vehículo de ~7-8 % a 14 días. En contraste, y de forma sorprendente, los estudios anteriores con FC-leptina (leptina A200) solamente habían dado como resultado una pérdida de peso de aproximadamente el 4 % a 14 días después de una dosis de 5 mg/kg/semana con inyecciones en el día 0 y el día 7 en un modelo DIO similar.

**Ejemplo 8: Detección de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería en plasma**

**Método.** Ratas Sprague Dawley con obesidad inducida por la dieta (DIO) con un peso promedio aproximado de 483 gramos se dividieron en cinco grupos, dos de los cuales recibieron un implante con bombas osmótica. Uno de los grupos con bomba osmótica recibió una infusión subcutánea continua (CSI) del vehículo solamente; el otro recibió CSI de la SEQ ID NO:33 (es decir, A500) en vehículo a una dosis de 250 mg/kg/día. Los otros tres grupos se

trataron de la siguiente forma: un grupo recibió inyecciones subcutáneas una vez a la semana de vehículo solo los días 0, 7, 14, y 21 del estudio; otro grupo recibió inyecciones subcutáneas una vez a la semana de la SEQ ID NO:54 (un polipéptido diseñado por ingeniería genética ABD-A500) a una dosis de 1,3 mg/kg en vehículo los días 0, 7, 14, y 21 del estudio; los grupos restantes recibieron inyecciones subcutáneas una vez a la semana de la SEQ ID NO:54 a una dosis de 3,0 mg/kg en vehículo los días 0, 7, 14, y 21 del estudio. Se tomaron muestras de sangre de todos los animales en el día 27, que fue el día en que el estudio finalizó.

**Resultados.** Los resultados, representados gráficamente en la Figura 6, demuestran que las inyecciones una vez a la semana de la SEQ ID NO:54 a 1,3 mg/kg dieron como resultado niveles plasmáticos que eran ligeramente inferiores a los obtenidos mediante la infusión continua de SEQ ID NO:33, y que las inyecciones una vez a la semana de la SEQ ID NO:54 a 3,0 mg/kg dieron como resultado niveles plasmáticos que eran significativamente mayores que los conseguidos con una infusión continua e la SEQ ID NO:33 (comparar el *panel izquierdo* con el *panel derecho*; a tener en cuenta las diferencias en las escalas del eje Y de cada *panel*).

#### 15 **Ejemplo 9: Cambio en el peso corporal después de una sola administración de polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética**

**Método.** Ratas Sprague Dawley magras se mantuvieron con una dieta baja en grasa durante el estudio. El peso corporal medio fue 330 gramos al comienzo del estudio. Cada animal de ensayo (n=5/grupo) recibió una única inyección subcutánea a tiempo=0. Los animales se dividieron en cinco grupos. Cada grupo fue asignado para recibir uno de los siguientes: vehículo; SEQ ID NO: 54 en vehículo; SEQ ID NO:56 en vehículo; SEQ ID NO: 58 en vehículo; SEQ ID NO: 59 en vehículo. cada una de las SEQ ID NOS; 54, 56, 58, y 59 se administraron a una dosis de 120 nmol/kg. El porcentaje de cambio en el peso corporal de cada grupo se controló durante 14 días, y los resultados se registraron como se muestra (Figura 7).

**Resultados.** Como se representa gráficamente en la Figura 7, cada grupo de animales que recibió una sola inyección de una de las SEQ ID NOS analizadas mostró una pérdida de peso significativa y mantenida durante la totalidad de los 14 días del estudio, con respecto al grupo que recibió solamente vehículo.

#### 30 **Ejemplo 10: Cambio en el peso corporal después de una sola administración de polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética**

**Método.** Ratas Sprague Dawley magras se mantuvieron con una dieta baja en grasa durante el estudio. El peso corporal medio fue 330 gramos al comienzo del estudio. Los animales se dividieron en seis grupos (n=5/grupo). Cada animal de ensayo recibió una única inyección subcutánea a tiempo=0. Cada grupo fue asignado para recibir uno de los siguientes: vehículo; SEQ ID NO:54 en vehículo; SEQ ID NO:57 en vehículo; SEQ ID NO:60 en vehículo; SEQ ID NO:61 en vehículo; SEQ ID NO:62 en vehículo. cada una de las SEQ ID NOS; 54, 57, 60, 61, y 62 se administraron a una dosis de 120 nmol/kg. El porcentaje de cambio en el peso corporal de cada grupo se controló durante 14 días, y los resultados se registraron como se muestra (Figura 8).

**Resultados.** Como se representa gráficamente en la Figura 8, cada grupo de animales que recibió una sola inyección de una de las SEQ ID NOS analizadas mostró una reducción en el peso corporal significativa y mantenida con respecto al grupo que recibió solamente vehículo.

#### 45 **Ejemplo 11: Cambio en el peso corporal y la ingesta de alimento después de una sola administración de polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética**

**Método.** Ratas Sprague Dawley magras se mantuvieron con una dieta baja en grasa durante el estudio. El peso corporal medio fue 317 gramos al comienzo del estudio. Cada animal de ensayo (n=7/grupo) recibió una única inyección subcutánea a tiempo=0. Los animales se dividieron en cuatro grupos. Cada grupo fue asignado para recibir uno de los siguientes: vehículo; SEQ ID NO: 54 en vehículo; SEQ ID NO:63 en vehículo; SEQ ID NO:64 en vehículo. Cada una de las SEQ ID NOS; 54, 63, y 64 se administraron a una dosis de 120 nmol/kg. La ingesta de alimento y el porcentaje de cambio en el peso corporal de cada grupo se controló durante 14 días, y los resultados se registraron como se muestra (Figuras 9A y 9B, respectivamente).

**Resultados.** Tal como se representa gráficamente en las Figuras 9A y 9B, cada grupo de animales que recibió una sola inyección de una de las SEQ ID NOS analizadas mostró una reducción en la ingesta de alimento (Figura 9A) y en el peso corporal (Figura 9B) significativa y mantenida con respecto a solamente vehículo.

#### 60 **Ejemplo 12: Cambio en el peso corporal después de una sola administración de polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética**

**Método.** Ratas Sprague Dawley magras se mantuvieron con una dieta baja en grasa durante el estudio. El peso corporal medio fue 330 g al comienzo del estudio. Los animales se dividieron en seis grupos. Cada animal de ensayo (n=5/grupo) recibió una única inyección subcutánea a tiempo=0. Cada grupo fue asignado para recibir uno de los siguientes: vehículo; SEQ ID NO: 54 en vehículo; SEQ ID NO:67 en vehículo; SEQ ID NO: 68 en vehículo; y SEQ ID

NO:69 en vehículo. cada una de las SEQ ID NOS; 54, 67, 68, y 69 se administraron a una dosis de 120 nmol/kg. El porcentaje de cambio en el peso corporal de cada grupo se controló durante 10 días, y los resultados se registraron como se muestra (Figura 10).

- 5 **Resultados.** Como se representa gráficamente en la Figura 10, cada grupo de animales que recibió una sola inyección de una de las SEQ ID NOS analizadas mostró una reducción en el peso corporal significativa y mantenida con respecto al grupo que recibió solamente vehículo.

10 **Ejemplo 13: Cambio en el peso corporal después de una sola administración de polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética**

15 **Método.** Ratas Sprague Dawley magras se mantuvieron con una dieta baja en grasa durante el estudio. El peso corporal medio fue de 320 gramos al comienzo del estudio. Los animales se dividieron en seis grupos. Cada animal de ensayo (n=5/grupo) recibió una única inyección subcutánea a tiempo=0. Cada grupo fue asignado para recibir uno de los siguientes: vehículo; SEQ ID NO: 54 en vehículo; SEQ ID NO:104 en vehículo; SEQ ID NO:105 en vehículo; SEQ ID NO:106 en vehículo; y SEQ ID NO:107 en vehículo. cada una de las SEQ ID NOS; 54, 104, 105, 106, y 107 se administraron a una dosis de 120 nmol/kg. El cambio en el peso corporal de cada grupo se controló durante 9 días, y los resultados se registraron como se muestra (Figuras 11A a 11C).

20 **Resultados.** Como se representa gráficamente en la Figura 11, cada grupo de animales que recibió una sola inyección de una de las SEQ ID NOS analizadas mostró una reducción en la ingesta de alimento (Figura 11A) y en el peso corporal (Figuras 11B y 11C) significativa y mantenida con respecto a solamente vehículo.

25 **Ejemplo 14: Determinación de la afinidad para los polipéptidos de unión a albúmina**

En este ejemplo, el Compuesto 2 y el Compuesto 15 se caracterizaron por su afinidad a diferentes variantes de albúmina.

30 **Materiales y métodos**

Todos los estudios se realizaron con un sistema BioRad ProteOn XPR36 usando un chip detector GLC a 25 grados C. Para el acoplamiento de la amina, el chip GLC se activó durante 5 minutos usando una mezcla 1:1 de sulfonhído/EDC diluida 30 veces a partir de la disolución madre inicial en agua, como se muestra a continuación. Cada muestra de albúmina se diluyó a 25 ug/ml en Acetato Na 10 mM pH 5,0 y se inyectó durante 5 minutos sobre superficies diferentes del sensor. Cada superficie se bloqueó con etanolamina 1 M pH 8,5. Cada albúmina se acopló a una densidad de 2000-5000 en unidades de resonancia.

La unión de un polipéptido diseñado por ingeniería genética se analizó usando 5 nM como la concentración más elevada a una dilución en serie de tres veces. El tampón de análisis contenía HEPES 10 mM pH 7,4, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM y tween 20 al 0,005 %. Todas las muestras se analizaron usando diluciones en serie 3 veces. Cada concentración de la serie se analizó por duplicado. La fase de disociación para la concentración más elevada se controló durante 3 horas. **Resultados**

La  $K_D$  relativa medida para los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética se presenta en la Tabla 7 siguiente. Los resultados muestran que los polipéptidos de unión a albúmina se asocian con las albúminas séricas (AS) con alta afinidad.

**Tabla 7:  $K_D$  de los polipéptidos de unión a albúmina para variantes de albúmina**

Nombre del Compuesto	AS rata	AS humana	AS mono	AS perro	AS ratón	Unidades
ABD00239 (SEQ ID NO:49)	18	16	123	201	1.240	pM
Comp. 2	33	56	158	358	1.970	
Comp. 15	<2	12	17	40	277	

50 **Ejemplo 15: Actividad funcional de leptina in vitro en presencia de albúmina.**

En este ensayo, se usó el método descrito en el Ejemplo 2, salvo que la albúmina se añadió al tampón de estimulación para ensayar la función de leptina del Compuesto 2 en presencia de albúmina. Las albúminas analizadas incluían 0,1 % o 1 % de albúmina de suero bovino (BSA), 1 % de albúmina de suero de rata (RSA), o 1 % de albúmina sérica humana (HSA). La muestra de control fue la leptina A100 con BSA al 0,1 %.

**Resultados.** Tal como se muestra en la Figura 12, no se apreciaron efectos de la albúmina bovina/de rata/humana al 1 % sobre la actividad CE50 generada por el Compuesto 2 en el ensayo de la función de leptina. Los resultados

son sorprendentes y muestran que los compuestos terapéuticos son activos incluso cuando están unidos a albúmina.

**Ejemplo 16: Perfiles farmacocinéticos prolongados administrados por los péptidos diseñados mediante ingeniería genética después de la inyección subcutánea en ratas**

Este estudio se realizó para evaluar el Compuesto 2 y el Compuesto 15 en ratas mediante la comparación de sus perfiles de concentración frente al tiempo, es decir, los perfiles farmacocinéticos.

10 Las ratas se clasificaron en grupos de tratamiento. El Compuesto 2 se administró por vía subcutánea a 30 nmol/kg, 60 nmol/kg, o 120 nmol/kg. Se tomaron muestras de sangre antes y a 12, 24, 48, 96, y 144 h después de la administración de la vena lateral de la cola. La concentración del Compuesto 2 en plasma se midió mediante un método de ensayo inmunoenzimático.

15 El Compuesto 15 se administró por vía subcutánea a 120 nmol/kg. Se tomaron muestras de sangre antes y a 0,5, 1, 2, 4, 6, 24, 48, 72, 96, 120 y 144 h después de la administración de la vena lateral de la cola. La concentración del Compuesto 15 en plasma se midió mediante un método de ensayo inmunoenzimático.

20 Tanto el Compuesto 2 (Figura 13) como el Compuesto 15 (Figura 14) mostraron perfiles en plasma frente al tiempo prolongados.

**Ejemplo 17: Efecto de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética mediados por los receptores de leptina**

25 **Método.** Se usaron para este estudio ratas Sprague Dawley y ratas ZDF. Las ratas ZDF tienen una mutación (*fa*) que da como resultado un receptor de leptina más corto que no interactúa eficazmente con la leptina. El peso corporal medio fue 225 gramos al comienzo del estudio. Los animales se dividieron en dos grupos ( $n=5/\text{grupo}$ ). Cada grupo fue asignado para recibir uno de los siguientes: vehículo; Comp. 2 a 2,7 mg/kg en vehículo. Cada animal de ensayo recibió una única inyección subcutánea a tiempo=0. El cambio en el peso corporal (corregido para el % de vehículo) se controló, y los resultados se registraron como se muestra (Figuras 15A, 15B)). Compuestos administrados: Vehículo (círculo sólido); Comp. 2 a 2,7 mg/kg (cuadrado sólido).

35 **Resultados.** Tal como se representa gráficamente en las Figuras 15A y 15B, el Compuesto 2 no es eficaz en las ratas ZDF, lo que indica que sus efectos están mediados por los receptores de leptina.

**Ejemplo 18: Ahorro de dosis con los polipéptidos diseñados mediante ingeniería**

40 Este estudio comparó las dosis de A500 (SEQ ID NO:33) y Compuesto 2 (SEQ ID NO:54) necesarias para obtener una cantidad similar de pérdida de peso en ratas sensibles a leptina. Los resultados se muestran en la Figura 16. El Compuesto 2 dosificado a 120 nmol/kg/semana consigue ~ 18 % de pérdida de peso, corregida para el vehículo. Para conseguir la misma cantidad de pérdida de peso, A500 requirió una dosis dos veces al día de 120 nmol/kg/d o 1680 nmol/kg/d (120 por inyección X 2 para dos veces al día X 7 días) durante la semana. Sin desear quedar ligados a teoría alguna, este "ahorro de dosis" se puede atribuir, al menos parcialmente al perfil PK mejorado del Compuesto 2 respecto de A500.

**Ejemplo 19: Solubilidad de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética**

50 Tal como se establece en la Tabla 8 siguiente, los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética descritos en el presente documento tienen sorprendentemente una elevada solubilidad en pH neutro.

55 La solubilidad se midió con el siguiente ensayo: 6-10 mg de proteínas purificadas se concentraron a 4 °C con unidades de filtro de centrifuga (Amicon Ultra-15 o Ultra-4, con un corte de MW de 3 kDa; Millipore) hasta un volumen de menos de 0,5 ml. Se centrifugaron a 14.000 rpm durante 10 minutos a 4°C para eliminar el precipitado, y el sobrenadante se transfirió a un nuevo tubo. Se dejó que las proteínas se equilibraran durante la noche a temperatura ambiente en la oscuridad, a continuación, se filtraron con filtros de jeringa de 0,22 micrómetros (Millex GV; Millipore) para eliminar el precipitado. La absorbancia a OD280 se midió con un espectrofotómetro NanoDrop y la concentración se calculó utilizando el coeficiente de extinción molar teórico de la proteína.

**Tabla 8. Solubilidad de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética**

Compuesto	pI*	Carga neta a pH 7,4*	Solubilidad en PBS, pH 7,4 (mg/ml)**
A100	6,2	-2,8	2,1
ABD1-A100 (SEQ ID NO:147)	7,1	-0,7	8
A-500	6,2	-2,8	42,9
ABD1-A500 (Comp. 2)	7,1	-0,7	10,8

ABD1-HuSeal (Comp. 15)	10,0	+9,1	> 80
------------------------	------	------	------

**Ejemplo 20: Estabilidad de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética**

Tal como se establece en la Tabla 9 siguiente, los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética descritos en el presente documento son químicamente estables. Los compuestos se formularon a 1 mg/ml en tampones de diferentes pH. Como se muestra en la Tabla 9, los polipéptidos quiméricos tienen buena potencia (Tabla 9A) y pureza (Tabla 9B) después de dos semanas a 40°C, como se determina mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) en fase invertida.

**Tabla 9A. Potencia de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética**

Compuesto	% Potencia* según HPLC de fase invertida, 14 días a 40°C							
	pH 3,0	pH 4,0	pH 5,0	pH 6,0	pH 7,0	pH 8,0	pH 9,0	PBS, pH 7,4
ABD1-HuSeal (Comp. 15)	102,7	107,2	104,9	108,5	107,3	100,1	90,7	104,5
ABD1-A500 (Comp. 2)	95,9	95,9	97,3	91,7	87,3	90,8	72,1	92,0
ABD1-A100 (SEQ ID NO:147)	72,3	82,0	88,8	86,1	83,3	85,8	69,6	89,2

\* Potencia = área del pico principal/área nor. ref.

**Tabla 9B. Pureza de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética**

Compuesto	% Pureza según HPLC de fase invertida, 14 días a 40°C							
	pH 3,0	pH 4,0	pH 5,0	pH 6,0	pH 7,0	pH 8,0	pH 9,0	PBS, pH 7,4
ABD1-HuSeal	96,7	98,0	98,5	99,8	97,6	93,8	95,1	97,1
ABD1-A500	94,9	96,2	96,8	97,3	96,9	97,5	82,7	97,4
ABD 1-A100	70,0	79,4	85,4	86,5	86,8	86,8	70,9	87,8

**Ejemplo 21: Estabilidad de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética**

Tal como se establece en la Tabla 10 siguiente, los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética descritos en el presente documento son químicamente estables. El Compuesto 15 se formuló a tres concentraciones diferentes en el siguiente tampón: ácido glutámico 10 mM, glicina al 2 %, sacarosa al 1 %, Tween 20 al 0,01 %, pH 4,25 y se almacenó a 5°C, 15°C, o 25°C. Como se muestra en la Tabla 10, el Compuesto 15 es químicamente estable a 10, 20, y 30 mg/ml durante al menos 1 mes a 5-25°C, según se determina mediante HPLC.

**Tabla 10. Estabilidad de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética**

Concentración (mg/ml)	Condiciones de almacenamiento (°C)	% de potencia mediante RP-HPLC en un punto temporal (semana)		
		0	2	4
		10	5	103,1
	15	103,1	102,7	102,0
	25	103,1	103,8	104,0
20	5	102,0	103,6	103,7
	15	102,0	103,6	104,1
	25	102,0	103,2	103,8
30	5	104,1	104,1	103,3
	15	104,1	103,7	104,0
	25	104,1	102,6	103,4

Concentración (mg/ml)	Condiciones de almacenamiento (°C)	% Pureza mediante SCX-HPLC en un punto temporal (semana)		
		0	2	4
		10	5	97,6
	15	97,6	97,6	97,5
	25	97,6	97,4	96,0
20	5	97,9	97,7	97,6
	15	97,9	97,6	97,7
	25	97,9	97,4	96,4
30	5	97,7	97,6	97,7
	15	97,7	97,7	97,6
	25	97,7	97,3	97,2

**Ejemplo 22: Estabilidad de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética**

Tal como se establece en la Tabla 11 siguiente, los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética descritos en el presente documento son físicamente estables. El Compuesto 15 se formuló a tres concentraciones diferentes en

el siguiente tampón: ácido glutámico 10 mM, glicina al 2 %, sacarosa al 1 %, Tween 20 al 0,01 %, pH 4,25 y se almacenó a 37°C. Como se muestra en la Tabla 11, el Compuesto 15 es físicamente estable a 10, 20, y 30 mg/ml durante al menos 1 mes, según se determina mediante análisis visual.

5 **Tabla 11. Estabilidad de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética**

Concentración (mg/ml)	Condiciones de almacenamiento (°C)	Aspecto bajo FiberLite en el punto temporal (semana)			
		0	2	4	8
10	5	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
	15	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
	25	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
20	5	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
	15	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
	25	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
30	5	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
	15	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
	25	Transparente	Transparente	Transparente	Ligeramente turbio

**Ejemplo 23: Estabilidad de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética**

10 Los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética descritos en el presente documento son físicamente estables. La Tabla 12 muestra los resultados de la cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) realizada sobre A100, ABD1-HuSeal, y ABD1-A500. Los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética muestran de poca a ninguna autoasociación en dímeros/oligómeros, comparado con A100.

**Tabla 12. Estabilidad de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética**

Compuesto	Pk 1 (%)	Pk 2 (%)	Pk 3 (%)
ABD1-HuSeal	99,22	0,78	n/a
ABD1-A500	96,73	3,27	n/a
A100	88,21	11,15	0,65
PK1 = Monómero Pk2 = Dímero Pk3 = Oligómero (Trímero/Tetrámero)			

15 Método SEC:

Columna - Tosoh TSK Gel G3000 SWxl 7,8 mm x 30 cm (#08541)  
 Fase móvil - Fosfato Na 10 mM, pH 7,4 + NaCl 238 mM + KCl 2,7mM  
 Tiempo de análisis - 22 min  
 20 Caudal - 0,8 ml/min  
 Temp Columna - 25°C  
 Temp Muestra - 5°C  
 Carga muestra - 40 ug  
 25 Detección - 214 nm

**Ejemplo 24: La sinergia de amilina y leptina está ausente en sujetos con un IMC elevado**

30 Los estudios anteriores habían descrito la sinergia amilina/leptina en ratas que pesaban 500-550 gramos. Después de notar una relación inversa entre la eficacia y el IPC, los autores evaluaron los efectos de la combinación en ratas muy obesas (750 gramos) y en ratas muy obesas con restricción dietética hasta el intervalo moderadamente obeso (500-550 g) antes de iniciar el tratamiento farmacológico.

35 En este estudio, un grupo de ratas muy obesas (750 g) se dejaron con alimento en libertad y se trataron con amilina, leptina, o la combinación de amilina+leptina. Aunque la amilina fue eficaz, no se observó una sinergia evidente con la adición de la leptina. Un segundo grupo de ratas muy obesas (750 g) se sometió a restricción calórica hasta el

intervalo de 500-550 g para el cual se había demostrado anteriormente sinergia. Estos animales comenzaron seguidamente un tratamiento con amilina/leptina y se permitió que se alimentaran a voluntad. La Figura 17 muestra los resultados del estudio. Una recuperación del peso rápida fue evidente en las ratas tratadas con vehículo y monoterapia con leptina. Se consiguió cierto mantenimiento del peso con la monoterapia con amilina. No se consiguió ningún mantenimiento del peso adicional con la combinación. Estos hallazgos sugieren que la falta de sinergia en roedores con "elevado IMC" no se puede recuperar meramente usando dieta.

#### **Ejemplo 25: Sinergia de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería con agonistas de amilina**

Este estudio examinó si una administración una vez a la semana de amilina de rata PEGilada (Des-Lys1-[Lys26(mPEG40K)]-Amilina de rata, Compuesto 124) sería suficiente para obtener sinergia cuando se administra simultáneamente con ABD1-A500 (Compuesto 2). Para comparación, ABD1-A500 también se administró simultáneamente con amilina de rata infundida (Figura 18A). La Figura 18B muestra que, aunque la pérdida de peso inducida por la amilina de rata PEGilada es algo más lenta y de menor magnitud, la cantidad global de pérdida de peso (y sinergia) es cualitativamente similar a la que se obtiene con la amilina de rata infundida. La amilina se administró a 50 mg/kg/d mediante una minibomba osmótica SC, La amilina de rata PEGilada se administró a 125 nmol/kg una vez a la semana, y ABD1-A500 se administró a 120 nmol/kg una vez a la semana a las ratas Harlan Sprague Dawley (HSD) macho con obesidad inducida por la dieta (DIO) con un peso promedio de 500 g.

#### **Ejemplo 26: Sinergia de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería con agonistas de amilina**

Este estudio muestra que la administración una vez a la semana de ABD1-HuSeal (Compuesto 15) es suficiente para mostrar sinergia cuando se administra simultáneamente junto con amilina de rata. La Figura 19 muestra que la combinación del polipéptido diseñado mediante ingeniería genética y la amilina infundida dio como resultado una menor ingesta de alimentos (Figura 19A) y una mayor pérdida de peso (Figura 19B) que los resultados observados para cada agente por separado. ABD1-HuSeal se administró a 120 nmol/kg y la amilina se administró a 50 mg/kg/d mediante una minibomba osmótica SC a ratas HSD DIO macho con un peso promedio de 500 g.

#### **Ejemplo 27: Sinergia de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería con agonistas de amilina**

Este estudio muestra que la administración una vez a la semana de ABD1-HuSeal (Compuesto 15) es suficiente para mostrar sinergia cuando se administra simultáneamente con una administración dos veces a la semana de amilina de rata PEGilada (Des-Lys1-[Lys26(mPEG40K)]-Amilina de rata, Compuesto 124). La Figura 20 muestra que la combinación del polipéptido diseñado mediante ingeniería genética y la amilina de rata PEGilada dio como resultado una mayor pérdida de peso que los resultados observados para cada agente por separado. ABD1-HuSeal se administró a 120 nmol/kg y la PEG-amilina se administró a 125 nmol/kg a ratas HSD DIO macho con un peso promedio de 500 g.

#### **Ejemplo 28: Sinergia de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería con agonistas de amilina en una población con IMC alto**

La Figura 21A muestra los resultados de estudios anteriores, que describen la sinergia amilina/leptina en ratas que pesaban 500-550 gramos. La Figura 21B muestra que esta sinergia no se observa en una población de ratas con un IMC elevado (peso promedio de 700 g). La Figura 21C muestra que la administración una vez a la semana de ABD1-A500 (Compuesto 15) es suficiente para mostrar sinergia cuando se administra simultáneamente con una administración dos veces a la semana de amilina de rata PEGilada (Des-Lys1-[Lys26(mPEG40K)]-Amilina de rata, Compuesto 124) en ratas con IMC elevado. ABD1-A500 se administró a 120 nmol/kg y la PEG-amilina se administró a 125 nmol/kg a ratas HSD DIO macho con un peso promedio de 700 g.

#### **Ejemplo 29: Sinergia de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería con agonistas de amilina en una población con IMC alto**

Este estudio muestra que la administración una vez a la semana de ABD1-HuSeal (Compuesto 15) o ABD1-A500 (Compuesto 2) es suficiente para mostrar sinergia cuando se administra simultáneamente junto con amilina de rata a ratas de elevado IMC. ABD1-HuSeal (Figura 22A) o ABD1-A500 (Figura 22B) se administró a 120 nmol/kg y la amilina se administró a 50 mg/kg/d mediante una minibomba osmótica SC a ratas HSD DIO macho con un peso promedio de 700 g.

#### **Ejemplo 30: Efectos antidiabéticos de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética sobre ratones diabéticos tipo 1 no obesos**

El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos in vivo de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética sobre criterios de valoración clave tanto diabéticos como metabólicos en un modelo de ratón con diabetes mellitus de Tipo 1 (T1DM) STZ de alta dosis. Ratones C57 BL/6 macho recibieron una única inyección intraperitoneal de STZ a 200 mg/kg para inducir la diabetes de Tipo 1. Los compuestos se administraron dos veces a la semana por vía subcutánea a 120 nmol/kg durante dos semanas. Los criterios de valoración medidos incluían niveles de HbA1c,

niveles de glucosa, peso corporal, e ingesta de alimento.

La Figura 23 muestra que tanto el Compuesto 15 como el Compuesto 2 normalizaron la glucosa en sangre en ratones con diabetes inducida por STZ. Ambos polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética también redujeron los niveles de hemoglobina A1c, como se muestra en la Figura 24, y redujeron el peso corporal y la ingesta de alimento acumulada, como se muestra en la Figura 25.

Para garantizar que los efectos de disminución de la glucosa no eran debidos a los efectos de la insulina, se realizó otro estudio para combinar la terapia de leptina con una dosis baja de insulina. El Compuesto 15 se administró con o sin la adición de una dosis de 0,05 U/día de insulina en un modelo de ratón de la DMT1 STZ de dosis alta. Ratones C57 BL/6 macho recibieron una única inyección intraperitoneal de STZ a 175 mg/kg para inducir la diabetes de Tipo 1. Los compuestos se administraron dos veces a la semana por vía subcutánea a 60 nmol/kg durante dos semanas. Los criterios de valoración medidos incluían niveles de HbA1c, niveles de glucosa, peso corporal, e ingesta de alimento.

La Figura 26 muestra un efecto de reducción de la glucosa potenciado con una dosis baja de insulina de forma aditiva al Compuesto 15. También redujo los niveles de hemoglobina A1c, como se muestra en la Figura 27, y redujeron el peso corporal y la ingesta de alimento acumulada, como se muestra en la Figura 28.

## VIII. Realizaciones

Se proporcionan a continuación realizaciones adicionales de los polipéptidos diseñados mediante ingeniería genética, métodos de uso de los mismos, y composiciones farmacéuticas:

Realización 1. Un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética que comprende: un polipéptido de un dominio de unión a albúmina (ABD); y un primer dominio de hormona polipeptídico (HD1) seleccionado entre una leptina, un análogo de leptina, o un fragmento activo de la misma.

Realización 2. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la Realización 1, que comprende además un primer enlazador (L1) covalentemente unido a dicho HD1.

Realización 3. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la Realización 1 o 2, en el que dicho polipéptido diseñado mediante ingeniería genética comprende un ABD como resto del extremo N y dicho HD1 como resto del extremo C.

Realización 4. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la Realización 1 o 2, en el que dicho polipéptido diseñado mediante ingeniería genética comprende dicho ABD como resto del extremo C y dicho HD1 como resto del extremo N.

Realización 5. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la Realización 3, que comprende la estructura: ABD-HD1.

Realización 6. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la Realización 3, que comprende la estructura: ABD-L1-HD1.

Realización 7. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la Realización 4, que comprende la estructura: HD1-ABD.

Realización 8. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la Realización 4, que comprende la estructura: HD1-L1-ABD.

Realización 9. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 8, en el que dicho HD1 es dicha una leptina, un análogo de leptina, un fragmento activo de leptina, o un derivado de leptina.

Realización 10. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 9, en el que dicho HD1 tiene una identidad de al menos un 50 % con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en la: SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, y SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145, y la SEQ ID NO: 146.

Realización 11. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las

- 5 Realizaciones 1 a 10, en el que dicho HD1 tiene una identidad de al menos un 90 % con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en la: SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, y SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145, y la SEQ ID NO: 146.
- 10 Realización 12. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 11, en el que dicho HD1 tiene al menos un 50 % de identidad con una leptina humana.
- 15 Realización 13. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 12, en el que dicho HD1 tiene al menos un 90 % de identidad con una leptina humana.
- 20 Realización 14. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 13, en el que dicho HD1 tiene al menos un 50 % de identidad con la SEQ ID NO: 20.
- Realización 15. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 14, en el que dicho HD1 tiene al menos un 90 % de identidad con la SEQ ID NO: 20.
- 25 Realización 16. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 15, en el que dicho HD1 tiene al menos un 50 % de identidad con una leptina de tipo platypus.
- Realización 17. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 16, en el que dicho HD1 tiene al menos un 50 % de identidad con una leptina de pinnípedo.
- 30 Realización 18. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 17, en el que dicho HD1 tiene de 1 a 5 modificaciones de aminoácidos seleccionadas independientemente entre una cualquiera o combinación de una inserción, delección, adición y sustitución.
- 35 Realización 19. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 18, en el que dicho HD1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las: SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145, y la SEQ ID NO: 146.
- 40 Realización 20. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 19, en el que dicho HD1 comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en las: SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, y la SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145, y la SEQ ID NO: 146.
- 45 Realización 21. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 20, en el que dicho HD1 es la SEQ ID NO:1.
- 50 Realización 22. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 20, en el que dicho HD1 es la SEQ ID NO:2.
- 55 Realización 23. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 20, en el que dicho HD1 es la SEQ ID NO:3.
- 60 Realización 24. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 20, en el que dicho HD1 es la SEQ ID NO:4.
- Realización 25. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 20, en el que dicho HD1 es la: SEQ ID NO:5.
- 65 Realización 26. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 20, en el que dicho HD1 es la SEQ ID NO:6.

## ES 2 641 869 T3

- Realización 27. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 20, en el que dicho HD1 es la SEQ ID NO:7.
- 5 Realización 28. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 20, en el que dicho HD1 es la SEQ ID NO:8.
- Realización 29. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 20, en el que dicho HD1 es la SEQ ID NO:9.
- 10 Realización 30. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 20, en el que dicho HD1 es la SEQ ID NO:10.
- Realización 31. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 20, en el que dicho HD1 es la SEQ ID NO:11.
- 15 Realización 32. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 20, en el que dicho HD1 es la SEQ ID NO:12.
- Realización 33. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 20, en el que dicho HD1 es la SEQ ID NO:13.
- 20 Realización 34. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 20, en el que dicho HD1 es la SEQ ID NO:14.
- Realización 35. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 20, en el que dicho HD1 es la SEQ ID NO:15.
- 25 Realización 36. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la SEQ ID NO:16.
- Realización 37. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la SEQ ID NO:17.
- 30 Realización 38. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la SEQ ID NO:18.  
Realización 39. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la SEQ ID NO:19.
- Realización 40. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la SEQ ID NO:20.
- 35 Realización 41. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la SEQ ID NO:21.
- Realización 42. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la SEQ ID NO:22.
- 40 Realización 43. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la SEQ ID NO:23.
- Realización 44. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la SEQ ID NO:24.
- 45 Realización 45. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la SEQ ID NO:25.
- Realización 46. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la SEQ ID NO: 26.
- Realización 47. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la SEQ ID NO:27.
- 50 Realización 48. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la SEQ ID NO:28.
- Realización 49. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la SEQ ID NO:29.
- Realización 50. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la SEQ ID NO:30.
- 55 Realización 51. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la SEQ ID NO:31.
- Realización 52. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la SEQ ID NO:32.
- 60 Realización 53. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la SEQ ID NO:33.
- Realización 54. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 53, en el que dicho ABD de la secuencia de aminoácidos:
- 65 GVSD X<sub>5</sub> YK X<sub>8</sub> X<sub>9</sub> I X<sub>11</sub> X<sub>12</sub> A X<sub>14</sub> TVEGV X<sub>20</sub> AL X<sub>23</sub> X<sub>24</sub> X<sub>25</sub> I (SEQ ID NO:34)

en la que: independientemente entre sí,

- 5  
10  
15
- X<sub>5</sub> se selecciona entre Y y F;
  - X<sub>8</sub> se selecciona entre N, R y S;
  - X<sub>9</sub> se selecciona entre V, I, L, M, F e Y;
  - X<sub>11</sub> se selecciona entre N, S, E y D;
  - X<sub>12</sub> se selecciona entre R, K y N;
  - X<sub>14</sub> se selecciona entre K y R;
  - X<sub>20</sub> se selecciona entre D, N, Q, E, H, S, R y K;
  - X<sub>23</sub> se selecciona entre K, I y T;
  - X<sub>24</sub> se selecciona entre A, S, T, G, H, L y D; y
  - X<sub>25</sub> se selecciona entre H, E y D.

15 Realización 55. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 54, en la que: independientemente entre sí,

- 20
- X<sub>5</sub> es Y;
  - X<sub>8</sub> es N;
  - X<sub>23</sub> es T o I;
  - X<sub>24</sub> es S o L;
  - y X<sub>25</sub> es E o H.

25 Realización 56. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 55, en el que el motivo de unión a albúmina comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: GVSDYYKNLINKAK-TVEGVEALTLHI (SEQ ID NO:114) y GVSDYYKNLINKAKTVEGVEALISEI (SEQ ID NO:115).

30 Realización 57. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 56, en el que dicho ABD comprende un motivo de unión a albúmina (ABM) que no es GVSDYYKNLINNAKTVEGVKALIDEI (SEQ ID NO:35).

35 Realización 58. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 57, en el que dicho ABD comprende un ABM divulgado en la Tabla 1.

40 Realización 59. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 58, en el que dicho ABD comprende la secuencia de aminoácidos:

LAEAK X<sub>a</sub> X<sub>b</sub> A X<sub>c</sub> X<sub>d</sub> EL X<sub>e</sub> KY -[ABM]- LAALP (SEQ ID NO:36) en la que

- 40  
45
- [ABM] es un motivo de unión a albúmina, e, independientemente entre sí, X<sub>a</sub> se selecciona entre V y E;
  - X<sub>b</sub> se selecciona entre L, E y D;
  - X<sub>c</sub> se selecciona entre N, L e I;
  - X<sub>d</sub> se selecciona entre R y K;
  - X<sub>e</sub> se selecciona entre D y K;
  - la leucina en la posición 45 está presente o ausente; y
  - la prolina en la posición 46 está presente o ausente.

50 Realización 60. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 59, en la que: independientemente entre sí,

- 55
- X<sub>a</sub> es E;
  - X<sub>b</sub> es D;
  - X<sub>c</sub> es I; y
  - X<sub>d</sub> es K.

60 Realización 61. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 60, en el que el polipéptido del dominio de unión a albúmina (ABD) comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en:

LAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTLHILALP (SEQ ID NO:50);  
y LAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALISEILALP (SEQ ID NO:51).

65 Realización 62. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 61, en el que dicho ABD comprende la secuencia de aminoácidos:

LAEAK X<sub>a</sub> X<sub>b</sub> A X<sub>c</sub> X<sub>d</sub> EL X<sub>e</sub> KY -[ABM]- LAALP (SEQ ID NO:36) en la que

[ABM] es un motivo de unión a albúmina, e, independientemente entre sí, X<sub>a</sub> se selecciona entre V y E;  
 X<sub>b</sub> se selecciona entre L, E y D;  
 X<sub>c</sub> se selecciona entre N, L e I;  
 X<sub>d</sub> se selecciona entre R y K;  
 X<sub>e</sub> se selecciona entre D y K;  
 la leucina en la posición 45 está presente o ausente;  
 la prolina en la posición 46 está presente o ausente; y

en la que el ABM consiste en la secuencia de aminoácidos:

GVSD X<sub>5</sub> YK X<sub>8</sub> X<sub>9</sub> I X<sub>11</sub> X<sub>12</sub> A X<sub>14</sub> TVEGV X<sub>20</sub> AL X<sub>23</sub> X<sub>24</sub> X<sub>25</sub> I (SEQ ID NO:34) en la que, independientemente entre sí,

X<sub>5</sub> se selecciona entre Y y F;  
 X<sub>8</sub> se selecciona entre N, R y S;  
 X<sub>9</sub> se selecciona entre V, I, L, M, F e Y;  
 X<sub>11</sub> se selecciona entre N, S, E y D;  
 X<sub>12</sub> se selecciona entre R, K y N;  
 X<sub>14</sub> se selecciona entre K y R;  
 X<sub>20</sub> se selecciona entre D, N, Q, E, H, S, R y K;  
 X<sub>23</sub> se selecciona entre K, I y T;  
 X<sub>24</sub> se selecciona entre A, S, T, G, H, L y D;  
 y X<sub>25</sub> se selecciona entre H, E y D.

Realización 63. El polipéptido diseñados mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 62, en el que dicho ABD comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos un 85 % con una secuencia de aminoácidos que se selecciona entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, y la SEQ ID NO: 52.

Realización 64. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 63, en el que dicho ABD comprende uno cualquiera de los péptidos seleccionados entre el grupo que consiste en:

LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKSYINRAKTVEGVHTLIGHILAALP (SEQ ID NO:38),  
 LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVNALTHHILAALP (SEQ ID NO:39),  
 LAEAKVLANRELDKYGVSDDYKLNINRAKTVEGVHALIDHILAALP (SEQ ID NO:40)  
 LAEAKVLANRELDKYGVSDDYKNIINRAKTVEGVRALKLHILAALP (SEQ ID NO:41),  
 LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKLNINRAKTVEGVSSLKGHILAALP (SEQ ID NO:42),  
 LAEAKVLANRELDKYGVSDDYKLNINKAKTVEGVEALTLHILAALP (SEQ ID NO:43),  
 LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKLNINRAKTVEGVDALIAHILAALP (SEQ ID NO:44),  
 LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKSLINRAKTVEGVDALTSHILAALP (SEQ ID NO:45),  
 LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKLNINRAKTVEGVNSLTSHILAALP (SEQ ID NO:46),  
 LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKVNINKAKTVEGVEALIADILAALP (SEQ ID NO:47),  
 LAEAKVLANRELDKYGVSDDYKLNINKAKTVEGVQALIAHILAALP (SEQ ID NO:48),  
 LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALKLHILAALP (SEQ ID NO:49),  
 LAEAKEDAIELDKYGVSDYKLNINKAKTVEGVEALTLHILAALP (SEQ ID NO:50),  
 LAEAKEDAIELDKYGVSDYKLNINKAKTVEGVEALISEILAALP (SEQ ID NO:51), y  
 LAEAKEDAIELDKYGVSDYKRLISKAKTVEGVKALISEILAALP (SEQ ID NO:52).

Realización 65. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 64, en el que dicho enlazador L1 es un péptido de 1 a 30 aminoácidos o de menos de 30 aminoácidos.

Realización 66. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 65, en el que dicho enlazador L1 se selecciona entre los 20 aminoácidos que se producen naturalmente.

Realización 67. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 66, en el que dicho enlazador L1 son aminoácidos no naturales incorporados mediante síntesis química, modificación química posterior a la traducción o mediante incorporación in vivo mediante la expresión recombinante en una célula hospedadora.

Realización 68. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 67, en el que los aminoácidos de dicho enlazador L1 se seleccionan entre serina, glicina,

alanina, prolina, asparagina, glutamina, glutamato, aspartato, y lisina.

Realización 69. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 68, en el que dicho enlazador L1 comprende una mayoría de aminoácidos que están estéricamente impedidos.

Realización 70. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 69, en el que dicho enlazador L1 comprende uno o más de los siguientes: un enlazador ácido, un enlazador básico, y un motivo estructural,

Realización 71. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 70, en el que dicho enlazador L1 comprende poliglicina, polialaninas, poli(Gly-Ala), o poli(Gly-Ser).

Realización 72. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 71, en el que dicho enlazador L1 comprende una poliglicina de (Gly)<sub>3</sub>, (Gly)<sub>4</sub>, o (Gly)<sub>5</sub>.

Realización 73. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 72, en el que dicho enlazador L1 comprende (Gly)<sub>3</sub>Lys(Gly)<sub>4</sub>; (Gly)<sub>3</sub>AsnGlySer(Gly)<sub>2</sub>; (Gly)<sub>3</sub>Cys(Gly)<sub>4</sub>; y GlyProAsnGlyGly.

Realización 74. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 73, en el que dicho enlazador L1 comprende una combinación de Gly y Ala.

Realización 75. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 74, en el que dicho enlazador L1 comprende una combinación de Gly y Ser.

Realización 76. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 75, en el que dicho enlazador L1 comprende una combinación de Gly y Glu.

Realización 77. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 76, en el que dicho enlazador L1 comprende una combinación de Gly y Lys.

Realización 78. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 77, en el que dicho enlazador L1 comprende una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en: [Gly-Ser]<sub>n</sub>, [Gly-Gly-Ser]<sub>n</sub>, [Gly-Gly-Gly-Ser]<sub>n</sub> y [Gly-Gly-Gly-Gly-Ser]<sub>n</sub>; donde n es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10.

Realización 79. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 78, en el que dicho enlazador L1 comprende una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en: [Gly-Glu]<sub>n</sub>; [Gly-Gly-Glu]<sub>n</sub>; [Gly-Gly-Gly-Glu]<sub>n</sub>; [Gly-Gly-Gly-Gly-Glu]<sub>n</sub>; [Gly-Asp]<sub>n</sub>; [Gly-Gly-Asp]<sub>n</sub>; [Gly-Gly-Gly-Asp]<sub>n</sub>; [Gly-Gly-Gly-Gly-Asp]<sub>n</sub> donde n es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10.

Realización 80. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 79, en el que dicho enlazador L1 comprende una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en: [Gly-Glu]<sub>n</sub>; [Gly-Gly-Glu]<sub>n</sub>; [Gly-Gly-Gly-Glu]<sub>n</sub>; [Gly-Gly-Gly-Gly-Glu]<sub>n</sub>; [Gly-Asp]<sub>n</sub>; [Gly-Gly-Asp]<sub>n</sub>; [Gly-Gly-Gly-Asp]<sub>n</sub>; [Gly-Gly-Gly-Gly-Asp]<sub>n</sub> donde n es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10.

Realización 81. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 80, en el que dicho enlazador L1 comprende una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en: [Gly-Lys]<sub>n</sub>; [Gly-Gly-Lys]<sub>n</sub>; [Gly-Gly-Gly-Lys]<sub>n</sub>; [Gly-Gly-Gly-Gly-Lys]<sub>n</sub>; [Gly-Arg]<sub>n</sub>; [Gly-Gly-Arg]<sub>n</sub>; [Gly-Gly-Gly-Arg]<sub>n</sub>; [Gly-Gly-Gly-Gly-Arg]<sub>n</sub> donde n es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10.

Realización 82. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 81, en el que dicho enlazador L1 comprende una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en: [Glu-Ala-Ala-Ala-Lys]<sub>n</sub>, donde n es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10.

Realización 83. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 81, en el que dicho enlazador L1 comprende una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en: [Gly-Gly-Glu]<sub>6</sub>, [Gly-Gly-Lys]<sub>6</sub>, [Glu-Ala-Ala-Ala-Lys]<sub>3</sub>, [Glu-Ala-Ala-Ala-Lys]<sub>4</sub>, o [Glu-Ala-Ala-Ala-Lys]<sub>5</sub>.

Realización 84. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 83, en el que dicho enlazador L1 comprende un dipéptido TG en el extremo N.

Realización 85. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 84, en el que dicho enlazador L1 comprende un dipéptido AS en el extremo C.

Realización 86. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 85, en el que dicho enlazador L1 comprende un dipéptido TG en el extremo N y un dipéptido AS en el extremo C.

5 Realización 87. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 86, en el que dicho enlazador L1 comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona entre el grupo que consiste en TG-(GGGS)<sub>1</sub>, TG-(GGGS)<sub>2</sub>, TG-(GGGS)<sub>3</sub>, TG-(GGGS)<sub>4</sub>, TG-(GGGS)<sub>5</sub>, (GGGS)<sub>1</sub>-AS, (GGGS)<sub>2</sub>-AS, (GGGS)<sub>3</sub>-AS, (GGGS)<sub>4</sub>-AS, (GGGS)<sub>5</sub>-AS, TG-(GGGS)<sub>1</sub>-AS, TG-(GGGS)<sub>2</sub>-AS, TG-(GGGS)<sub>3</sub>-AS, TG-(GGGS)<sub>4</sub>-AS, y TG-(GGGS)<sub>5</sub>-AS.

10 Realización 88. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 87, en el que dicho dipéptido TG y/o dicho dipéptido AS están ausentes o se han sustituido por un par de aminoácidos seleccionados entre T, A, S, y G.

15 Realización 89. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 88, en el que dicho polipéptido comprende además uno o más enlazadores adicionales.

20 Realización 90. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 89, en el que dicho polipéptido diseñado mediante ingeniería genética comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las: SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 106, y la SEQ ID NO: 107.

30 Realización 91. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 90, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53.

35 Realización 92. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 90, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:54.

40 Realización 93. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 90, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:55.

45 Realización 94. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 90, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:56.

Realización 95. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 90, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:57.

50 Realización 96. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 90, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58.

55 Realización 97. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 90, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:59.

60 Realización 98. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 90, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:60.

65 Realización 99. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 90, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:61.

Realización 100. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las





- Realizaciones 1 a 90, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:95.
- 5 Realización 134. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 90, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:96.
- 10 Realización 135. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 90, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:97.
- 15 Realización 136. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 90, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:98.
- 20 Realización 137. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 90, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:99.
- 25 Realización 138. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 90, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:100.
- 30 Realización 139. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 90, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:102.
- 35 Realización 140. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 90, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:103.
- 40 Realización 141. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 90, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:104.
- 45 Realización 142. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 90, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:105.
- 50 Realización 143. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 90, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:106.
- 55 Realización 144. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 90, en el que el polipéptido quimérico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:107.
- 60 Realización 145. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 145, que tiene afinidad por la albúmina sérica con una constante de disociación menor de aproximadamente  $10^6$  mol/l.
- 65 Realización 146. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 146, que tiene afinidad por la albúmina sérica con una constante de disociación menor de aproximadamente  $10^9$  mol/l.
- Realización 147. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 147, que tiene afinidad por la albúmina sérica con una constante de disociación menor de aproximadamente  $10^{-12}$  mol/l.
- Realización 148. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 148, en el que el polipéptido tiene una duración de acción de al menos 1 día.
- Realización 149. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 149, en el que el polipéptido tiene una duración de acción de al menos 1 día.

- Realización 150. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 149, en el que el polipéptido tiene una duración de acción de al menos 3 días.
- 5 Realización 151. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 150, en el que el polipéptido tiene una duración de acción de al menos 5 días.
- 10 Realización 152. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 151, en el que el polipéptido tiene una duración de acción de al menos 5 días en un sujeto humano.
- 15 Realización 153. Un método para tratar una enfermedad o trastorno en un sujeto, que comprende administrar un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 152 y 170 a 192 a un sujeto que lo necesita en una cantidad eficaz para tratar dicha enfermedad o trastorno.
- 20 Realización 154. El método de acuerdo con la Realización 153, en el que dicha enfermedad o trastorno puede ser lipodistrofia, dislipidemia, hiperlipidemia, sobrepeso, obesidad, amenorrea hipotalámica, enfermedad de Alzheimer, deficiencia de leptina, enfermedad de hígado graso, diabetes (incluyendo tipo I y tipo II), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), enfermedad de hígado graso no alcohólica (NAFLD), y síndrome metabólico X.
- 25 Realización 155. El método de acuerdo con la Realización 153 o la Realización 154, en el que la enfermedad o trastorno es lipodistrofia, dislipidemia, hiperlipidemia, sobrepeso, obesidad, amenorrea hipotalámica, enfermedad de Alzheimer, deficiencia de leptina, enfermedad del hígado graso o diabetes.
- 30 Realización 156. El método de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 153 a 155, en el que dicha enfermedad o trastorno es diabetes de tipo I o diabetes de tipo II.
- 35 Realización 157. El método de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 153 a 155, en el que dicha enfermedad o trastorno es obesidad.
- 40 Realización 158. El método de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 153 a 155, en el que dicha enfermedad o trastorno es lipodistrofia o deficiencia en leptina.
- 45 Realización 159. Una composición farmacéutica que comprende un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 152 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 50 Realización 160. La composición farmacéutica de acuerdo con la Realización 159, en la que dicha composición farmacéutica es una composición farmacéutica inyectable.
- 55 Realización 161. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 159 a 160, en la que dicha composición farmacéutica es una composición farmacéutica de liberación sostenida o duradera.
- 60 Realización 162. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 159 a 161, en la que dicha composición farmacéutica es una composición farmacéutica para administrar una vez al día.
- 65 Realización 163. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 159 a 161, en la que dicha composición farmacéutica es una composición farmacéutica para administrar una vez a la semana.
- Realización 164. Una composición farmacéutica de una cualquiera de las Realizaciones 159 a 163 para tratar una enfermedad o trastorno en un sujeto.
- Realización 165. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 159 a 164, en la que la enfermedad o trastorno es lipodistrofia, dislipidemia, hiperlipidemia, sobrepeso, obesidad, amenorrea hipotalámica, enfermedad de Alzheimer, deficiencia de leptina, enfermedad de hígado graso, diabetes (incluyendo tipo I y tipo II), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), enfermedad de hígado graso no alcohólica (NAFLD), y síndrome metabólico X.
- Realización 166. La composición farmacéutica de la Realización a164 o la Realización 165, en la que dicha enfermedad o trastorno es lipodistrofia, dislipidemia, hiperlipidemia, sobrepeso, obesidad, amenorrea hipotalámica, enfermedad de Alzheimer, deficiencia de leptina, enfermedad del hígado graso o diabetes.
- Realización 167. El método de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 164 a 166, en el que dicha enfermedad o trastorno es diabetes de tipo I o diabetes de tipo II.

Realización 168. El método de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 164 a 166, en el que dicha enfermedad o trastorno es obesidad.

5 Realización 169. El método de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 164 a 166, en el que dicha enfermedad o trastorno es lipodistrofia o deficiencia en leptina.

Realización 170. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de una cualquiera de las Realizaciones 1 a 18, en el que dicho HD1 se selecciona entre el grupo que consiste en:

10 (a) la secuencia de aminoácidos 1-146 de una leptina seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145, y la SEQ ID NO: 146;

15 en las que un aminoácido diferente está sustituido en una o más de las siguientes posiciones y retiene la misma numeración (incluso en ausencia de un resto glutamínico en la posición 28): 4, 32, 33, 35, 50, 64, 68, 71, 74, 77, 78, 89, 97, 100, 102, 105, 106, 107, 108, 111, 118, 136, 138, 142, y 145;

20 (b) la secuencia de aminoácidos de la subparte (a) en que el resto glutamínico en la posición 28 está ausente;

(c) la secuencia de aminoácidos de las subpartes (a) o (b) en la que se añade un resto metionilo en el extremo N;

(d) una leptina que consiste en un fragmento de la secuencia de aminoácidos de (a), (b), o (c) seleccionados entre el grupo que consiste en:

25 (i) aminoácidos 98-146;

(ii) aminoácidos 1-32;

(iii) aminoácidos 40-116;

(iv) aminoácidos 1-99 y 112-146;

30 (v) aminoácidos 1-99 y 112-146 en el que uno o más de los aminoácidos 100-111 se coloca(n) entre los aminoácidos 99 y 122;

(vi) la secuencia de aminoácidos de la subparte (i) en la que uno o más de los aminoácidos 100, 102, 105, 106, 107, 108, 111, 118, 136, 138, 142, y 145 está sustituido con otro aminoácido;

35 (vii) la secuencia de aminoácidos de la subparte (ii) en la que uno o más de los aminoácidos 4, 8 y 32 está sustituido con otro aminoácido;

(viii) la secuencia de aminoácidos de la subparte (iii) en la que uno o más de los aminoácidos 50, 53, 60, 64, 66, 67, 68, 71, 74, 77, 78, 89, 97, 100, 102, 105, 106, 107, 108, 111 y 112 está(n) sustituido con otro aminoácido;

40 (ix) la secuencia de aminoácidos de la subparte (iv) en la que uno o más de los aminoácidos 4, 8, 32, 33, 35, 48, 50, 53, 60, 64, 66, 67, 68, 71, 74, 77, 78, 89, 97, 112, 118, 136, 138, 142, y 145 está sustituido con otro aminoácido;

(x) y (x) la secuencia de aminoácidos de la subparte (v) en la que uno o más de los aminoácidos 4, 32, 33, 35, 50, 64, 68, 71, 74, 77, 78, 89, 97, 100, 102, 105, 106, 107, 108, 111, 118, 136, 138, 142, y 145 está sustituido con otro aminoácido;

45 (xi) la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las subpartes (i)-(x) en la que se ha añadido una metionina al extremo N;

(e) la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las subpartes (a) a (d) en el que dicha secuencia de aminoácidos está unida a un resto químico;

50 (f) la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las subparte (e) en la que dicho resto químico es un resto polimérico soluble en agua;

(g) la secuencia de aminoácidos de la subparte (f) en la que dicho resto polimérico soluble en agua se selecciona entre el grupo que consiste en: polietilenglicol, un copolímero de etilenglicol/propilenglicol, una carboximetilcelulosa, un dextrano, un poli(alcohol vinílico), una polivinilpirrolidona, un poli-1,3-dioxolano, un poli-1,3,6-trioxano, un copolímero de etileno/anhídrido maleico, un homopolímero de poliaminoácidos, un copolímero aleatorio de poliaminoácidos, una albúmina, una proteína Fc, un poli(n-vinil pirrolidona)polietilenglicol, un homopolímero de propilenglicol, un copolímero de óxido de polipropileno/óxido de etileno, un poliol polioxi-etileno, un poli(alcohol vinílico), un polietilenglicol propionaldehído, un succinato, y un estireno;

60 (h) la secuencia de aminoácidos de la subparte (g) en la que dicho resto polimérico soluble en agua es un polietilenglicol; y

(i) la secuencia de aminoácidos de la subparte (g) en la que dicho resto polimérico soluble en agua es un poliaminoácido seleccionado entre el grupo que consiste en: una albúmina, un anticuerpo, una proteína Fc, y un resto polilisina.

65 Realización 171. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 18 y 170, en el que dicho HD1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre







Realización 191. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 18 y 171, en el que dicho HD1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las: SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145, y la SEQ ID NO: 146; en el que se ha realizado 20 sustituciones de aminoácidos.

Realización 192. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las Realizaciones 1 a 18 y 171, en el que dicho HD1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las: SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145, y la SEQ ID NO: 146; en el que se ha realizado 21 sustituciones de aminoácidos.

Realización 193. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de una cualquiera de las Realizaciones 1 a 20, en el que dicho HD1 es la SEQ ID NO:143.

Realización 194. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de una cualquiera de las Realizaciones 1 a 20, en el que dicho HD1 es la SEQ ID NO:144.

Realización 195. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de una cualquiera de las Realizaciones 1 a 20, en el que dicho HD1 es la SEQ ID NO:145.

Realización 196. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de una cualquiera de las Realizaciones 1 a 20, en el que dicho HD1 es la SEQ ID NO:146.

#### IX. Listado de secuencias informal

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

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHT-Xaa-SVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTL SKM  
 DQTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHLPQASGLETLES LGG  
 VLEASGYSTEVVALSRLQGS LQDMLRQLDLSPGC, en la que Xaa en la posición 28 es Q o está ausente (SEQ ID NO:1);  
 MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHT-Xaa-SVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTL SKMDQTL  
 AVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHLPQASGLETLES LGGVLEA  
 SGYSTEVVALSRLQGS LQDMLRQLDLSPGC, en la que Xaa en la posición 29 es Q o está ausente (SEQ ID NO:2);

VPIWRVQDDTKTLIKTIVTRISDISHMQSVSSKQRVTGLDFIPGLHPVLSLSKMDQTLAIY  
 QQILTSLPSRNVIQISNDLENLRDLLHLLASSKSCPLPQARALETLES LGGVLEASLYS  
 TEVVALSRLQ GALQDMLRQLDLSPGC (SEQ ID NO:3);

MVPIWRVQDDTKTLIKTIVTRISDISHMQSVSSKQRVTGLDFIPGLHPVLSLSKMDQTLAI  
 YQQILTSLPSRNVIQISNDLENLRDLLHLLASSKSCPLPQARALETLES LGGVLEASLY  
 STEVVALSRLQ GALQDMLRQLDLSPGC (SEQ ID NO:4);

VPICKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHT-Xaa-SVSSKQRVTGLDFIPGLHPLLSLSKMDQTLAI  
 YQQILTSLPSRN VVQISNDLENLRDLLHLLAASKSCPLPQVRALESLES LGVVLEASL YSTEVVALSRLQGS LQDM-  
 LRQLDLSPGC, en la que Xaa en la posición 28 es Q o está ausente (SEQ ID NO:5);  
 MVPICKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHT-Xaa-SVSSKQRVTGLDFIPGLHPLLSLSKMDQTL  
 AIYQQILTSLPSRN VVQISNDLENLRDLLHLLAASKSCPLPQVRALESLES LGVVLEAS  
 LYSTEVVALSRLQGS LQDMLRQLDLSPGC, en la que Xaa en la posición 29 es Q o está ausente (SEQ ID NO:6);

MHWGTLGFLWLPYLFYVQAVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTG  
LDFIPGLHPILTLSKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKKSCH  
LPWASGLETDSLGGVLEASGY STEVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID  
NO: 7);

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISH-Xaa-Xaa-SVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQT  
LAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKKSCHLPWASGLETDSLGGVLE  
ASGYSTEVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC, en la que: Xaa en la posición 27 es T o A;

5 y Xaa en la posición 28 es Q o está ausente (SEQ ID NO:8);  
MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISH-Xaa-Xaa-SVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQ  
TLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKKSCHLPWASGLETDSLGGVL  
EASGYSTEVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC, en la que: Xaa en la posición 28 es T o A, y Xaa en la posición 29  
10 es Q o está ausente (SEQ ID NO:9);

VPIQKVQSDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKRVVTGLDFIPGLHPVLTLSQMDQTLAIYQ  
QILINLPSRNVIQISNDLENLRDLLHLLAFSKSCHLPLASGLETLES LGDVLEASLYSTE  
VVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:10);

MVPIQKVQSDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKRVVTGLDFIPGLHPVLTLSQMDQTLAI  
YQQILINLPSRNVIQISNDLENLRDLLHLLAFSKSCHLPLASGLETLES LGDVLEASLY  
STEVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:11);

VPIHKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSARQKRVVTGLDFIPGLHPILSLSKMDQTLAVY  
QQILTSLPSQNVLQIAHDLENLRDLLHLLAFSKKCSLPQTRGLQKPESLDGVLEASLY  
STEVVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO:12);

MVPIHKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSARQKRVVTGLDFIPGLHPILSLSKMDQTLAV  
YQQILTSLPSQNVLQIAHDLENLRDLLHLLAFSKKCSLPQTRGLQKPESLDGVLEASL  
YSTEVVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO:13);

ISIEKIQADTKTLTKTIITRIIQLSTQNGVSTDQRVSGLDFIPGNQQFQNLADMDQTLAVYQ  
QILSSLPMPDRTQISNDLENLRSLFALLATLKNCPFTRSDGLDTMEIWGGIVEESLYST  
EVVTLDRLRKSLKNIKQLDHIQG (SEQ ID NO:14);

MRCILLYGFLCVWQHLYYSHPIKIQADTKTLTKTIITRIIQLSTQNGVSTDQRVSGLDF  
IPGNQQFQNLADMDQTLAVYQQILSSLPMPDRTQISNDLENLRSLFALLATLKNCPFT  
RSDGLDTMEIWGGIVEESLYSTEVVTLDRLRKSLKNIKQLDHIQG (SEQ ID NO:15);

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVY  
QQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPWASGLETLDLGGVLEASGY  
STEVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:16);

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHAQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVY  
QQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPWASGLETLDLGGVLEASGY  
STEVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:17);

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVYQ  
QILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPWASGLETLDLGGVLEASGYS  
TEVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:18);

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHASVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVYQ  
QILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPWASGLETLDLGGVLEASGYS  
TEVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:19);

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAV  
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPWASGLETLDLGGVLEASG  
YSTEVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:20);

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHAQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAV  
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPWASGLETLDLGGVLEASG  
YSTEVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:21);

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVY  
QQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPWASGLETLDLGGVLEASGY  
STEVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:22);

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHASVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVY  
QQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPLPWASGLETLDLGGVLEASGY  
STEVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:23);

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQ  
ILTSLQSRNVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHST  
EVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:24);

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQ  
ILTSLQSRNVQIANDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTE  
VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:25);

PIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQI  
LTSLQSRNVQIANDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTE  
VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:26);

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ  
QILTSLQSRNVQIANDLANLRALLRLLASAKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHS  
TEVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:27);

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ  
QILTSLQSRNVQIANDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHST  
EVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:28);

MPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQ  
QILTSLQSRNVQIANDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHST  
EVVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:29);

MDKTHCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY  
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE  
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN  
YKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG  
KVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTL  
AVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPLPWASGLETLDLGGVLEA  
SGYSTEVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:30);

**MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFFSKSCHLPQASGLETLDLGGVLEASG  
YSTEVALSRLQGSQDMLQQLDLSPGC (SEQ ID NO:31);**

5 MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFFSKSCHLPQASGLETLDLGGVLEASG  
YSTEVALSRLQGSQDMLQQLDLSPGC (SEQ ID NO:31);  
MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
YQQILTSMPSRNVIQICNDLENLRDLLHVLAFFSKSCHLPWASGLETLDLGGVLEASG  
YSTEVALSRLQGSQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:32);  
al cual se ha unido un resto de PEG de 20 kilodalton (kDa) mediante el resto de cisteína en la posición 78;

10 **MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFFSKSCHLPQASGLETLESLGGVLEASG  
YSTEVALSRLQGSQDMLQQLDLSPGC (SEQ ID NO:33);**

15 GVSD X<sub>5</sub> YK X<sub>8</sub> X<sub>9</sub> I X<sub>11</sub> X<sub>12</sub> A X<sub>14</sub> TVEGV X<sub>20</sub> AL X<sub>23</sub> X<sub>24</sub> X<sub>25</sub> I (SEQ ID NO:34), en la que X<sub>5</sub>, X<sub>8</sub>, X<sub>9</sub>, X<sub>11</sub>, X<sub>12</sub>, X<sub>14</sub>,  
X<sub>20</sub>, X<sub>23</sub>, X<sub>24</sub> y X<sub>25</sub> son como se describe en el presente documento;  
GVSDYYKNLINAKTVEGVKALIDEI (SEQ ID NO:35);  
LAEAK X<sub>a</sub> X<sub>b</sub> A X<sub>c</sub> X<sub>d</sub> EL X<sub>e</sub> KY -[ABM]- LAALP (SEQ ID NO:36), en la que ABM, X<sub>a</sub>, X<sub>b</sub>, X<sub>c</sub>, X<sub>d</sub> y X<sub>e</sub> son como se  
describe en el presente documento;  
LAEAKVLANRELDKYGVSDYYKNLINAKTVEGVKALIDEILAALP (SEQ ID NO:37);  
LAEAKVLANRELDKYGVSDYKSYINRAKTVEGVHTLIGHILAALP (SEQ ID NO:38);  
20 LAEAKVLANRELDKYGVSDYKRLINKAKTVEGVNALTHILAALP (SEQ ID NO:39);  
LAEAKVLANRELDKYGVSDYYKNLINAKTVEGVHALIDHILAALP (SEQ ID NO:40);  
LAEAKVLANRELDKYGVSDYYKNLINAKTVEGVRAKLHILAALP (SEQ ID NO:41);  
LAEAKVLANRELDKYGVSDYKLNINAKTVEGVSSKLGHILAALP (SEQ ID NO:42);  
LAEAKVLANRELDKYGVSDYKLNINAKTVEGVVEALTHILAALP (SEQ ID NO:43);  
25 LAEAKVLANRELDKYGVSDYKLNINAKTVEGVDAALIAHILAALP (SEQ ID NO:44);  
LAEAKVLANRELDKYGVSDYKLNINAKTVEGVDAALTSHILAALP (SEQ ID NO:45);  
LAEAKVLANRELDKYGVSDYKLNINAKTVEGVNSLTHILAALP (SEQ ID NO:46);  
LAEAKVLANRELDKYGVSDYKLNINAKTVEGVDAALIAHILAALP (SEQ ID NO:47);  
LAEAKVLANRELDKYGVSDYKLNINAKTVEGVQALIAHILAALP (SEQ ID NO:48);  
30 LAEAKVLANRELDKYGVSDYKLNINAKTVEGVDAALIAHILAALP (SEQ ID NO:49);  
LAEAKEDAIAKELDKYGVSDYKLNINAKTVEGVDAALIAHILAALP (SEQ ID NO:50);  
LAEAKEDAIAKELDKYGVSDYKLNINAKTVEGVDAALIAHILAALP (SEQ ID NO:51);  
LAEAKEDAIAKELDKYGVSDYKLNINAKTVEGVDAALIAHILAALP (SEQ ID NO:52);

MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALKLHILAALPTGGGGASVPIQ  
KVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMDQTLAVYQQ  
ILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPQASGLETLES LGGVLEASGYSTE  
VVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGC (SEQ ID NO:53);

MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALKLHILAALPTGGGGSGGGSG  
GGSGGGSASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTL  
SKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPQASGLETLES  
LGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGC (SEQ ID NO:54);

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMDQTLAV  
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPQASGLETLES LGGVLEASG  
YSTE VVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGCTGGGGSASLAEAKVLANRELDKYGVSDF  
YKRLINKAKTVEGVEALKLHILAALP (SEQ ID NO:55);

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMDQTLAV  
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSchLPQASGLETLES LGGVLEASG  
YSTE VVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGCTGGGGSGGGSGGGGSASLAEAKVL  
ANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALKLHILAALP (SEQ ID NO:56);

MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALKLHILAALPTGGGGSGGGSG  
GGSGGGSASISIEKIQADTKTLTKTIITRIIQLSTQNGVSTDQRVSGLDFIPGNQQFQNL

ADMDQTLAVYQQILSSLPMPDRTQISNDLENLRSLFALLATLKNCPFTRSDGLDTMEI  
WGGIVEESLYSTE VVTLDRLRKSLKNIEKQLDHIQGC (SEQ ID NO:57);

MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALKLHILAALPTGGGGSGGGSG  
GGSGGGSASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTL  
SKMDQTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPWASGLETLD  
SLGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:58);

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTL SKMDQTLAV  
YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPWASGLETLD SLGGVLEASG  
YSTE VVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGCTGGGGSGGGSGGGSGGGSASLAEAKVL  
ANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALKLHILAALP (SEQ ID NO:59);

MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALKLHILAALPTGGGGSGGGSG  
GGSGGGSASPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLS  
GMDQILATYQQILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKS CPVPRARGSDTIKGL  
GNVLRASVHSTE VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:60);

MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALKLHILAALPTGGGGSGGGSG  
GGSGGGSASPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLS  
GMDQILATYQQILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKS CPVPRARGSDTIKGL  
GNVLRASVHSTE VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:61);

MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALKLHILAALPTGPIQRVQDDT  
KTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQILTSLQSR  
NVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKS CPVPRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTE VVALSRL  
KAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:62);

MLAEAKVLANRELDKYGVSDYYKNIINRAKTVEGVRALKLHILAALPTGGGGSGGGSG  
GGSGGGSASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTL  
SKMDQTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPWASGLETLD  
SLGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:63);

MLAEAKVLANRELDKYGVSDYYKNIINRAKTVEGVRALKLHILAALPTGGGGSGGGSG  
GGSGGGSASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTL  
SKMDQTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPQASGLETLES  
LGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGC (SEQ ID NO:64);

MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALKLHILAALPTGGGGSGGGSG  
GGSGGGSASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTL  
SKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKKSCHLPQASGLETLDS  
LGGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDMLQQDLSPGC (SEQ ID NO:65);

MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALKLHILAALPTGLAEAAAKEA  
AAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQ  
KVTGLEFIPGLHPILTL SKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFS  
KSCHLPQASGLETLES LGGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDMLQQDLSPGC (SEQ  
ID NO:66);

MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALKLHILAALPTGGEGGEGGEG  
GEGGEGGEASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILT  
LSKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKKSCHLPQASGLETLE  
SLGGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDMLQQDLSPGC (SEQ ID NO:67);

MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALKLHILAALPTGGKGGKGGK  
GGKGGKGGKASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPI  
LTL SKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKKSCHLPQASGLET  
LES LGGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDMLQQDLSPGC (SEQ ID NO:68);

MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALKLHILAALPTGGGGSGGGSG  
GGSGGGSASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTL  
SKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCSLPQASGLETLES  
LGEVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDILQQDLSPEC (SEQ ID NO:69);

MLAEAKEDAIDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTLHILAALPTGGGGASVPIQK  
VQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTL SKMDQTLAVYQQI  
LTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKKSCHLPQASGLETLES LGGVLEASGYSTE  
VVALSRLQGSLQDMLQQDLSPGC (SEQ ID NO:70);

MLAEAKEDAIDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTLHILAALPTGGGGSGGGSG  
GGSGGGSASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTL  
SKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKKSCHLPQASGLETLES  
LGGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDMLQQDLSPGC (SEQ ID NO:71);

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLISKMDQTLAV  
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSKCHLPQASGLETLES LGGVLEASG

YSTEVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGCTGGGGGSASLAEAKEDAIKELDKYGVSDY  
YKNLINKAKTVEGVEALTHILAALP (SEQ ID NO:72);

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLISKMDQTLAV  
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSKCHLPQASGLETLES LGGVLEASG  
YSTEVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGCTGGGGSGGGSGGGGSASLAEAKED  
AIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTHILAALP (SEQ ID NO:73);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTHILAALPTGGGGSGGGSG  
GGGGGSASISIEKIQADTKTLTKTIITRIIQLSTQNGVSTDQRVSGLD FIPGNQQFQNL  
ADM DQTLAVYQQILSSLPMPDR TQISNDLENLRSLFALLATLKNCPFTRSDGLDTMEI  
WGGIVEESLYSTEVTLDRLRKS LKNIKQLDHIQGC (SEQ ID NO:74);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTHILAALPTGGGGSGGGSG  
GGGGGSASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTL  
SKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSKCHLPWASGLETLD  
SLGGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:75);

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLISKMDQTLAV  
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSKCHLPWASGLETLD SLGGVLEASG  
YSTEVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGCTGGGGSGGGSGGGGSASLAEAKED  
AIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTHILAALP (SEQ ID NO:76);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTHILAALPTGGGGSGGGSG  
GGGGGSASPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLD FIPRVQSVRTLS  
GMDQILATYQQILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCP VPRARGSDTIKGL  
GNVLRASVHSTEVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:77);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTHILAALPTGGGGSGGGSG  
GGGGGSASPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLD FIPRVQSVRTLS  
GMDQILATYQQILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCP VPRARGSDTIKGL  
GNVLRASVHSTEVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:78);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTLHILAALPTGPIQRVQDDTK  
TLIKTIITRINDISPPQGVCSPRVAGLDFIPRVQSVRTLSGMDQILATYQQILTSLQSRN  
VIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCPVPFRARGSDTIKGLGNVLRASVHSTEVVALSRLK  
AALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:79);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTLHILAALPTGGGGSGGGSG  
GGSGGGGSASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTL  
SKMDQTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPWASGLETLD  
SLGGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:80);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTLHILAALPTGGGGSGGGSG  
GGSGGGGSASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTL  
SKMDQTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPQASGLETLES  
LGGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGC (SEQ ID NO:81);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTLHILAALPTGGGGSGGGSG  
GGSGGGGSASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTL  
SKMDQTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPQASGLETLDS  
LGGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGC (SEQ ID NO:82);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTLHILAALPTGLAEAAAKEA  
AAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQ  
KVTGLEFIPGLHPILTL SKMDQTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFS  
KSCHLPQASGLETLES LGGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGC (SEQ  
ID NO:83);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTLHILAALPTGGEGGEGEGEG  
GEGEGGEASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILT  
LSKMDQTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPQASGLETLE  
SLGGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGC (SEQ ID NO:84);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTLHILAALPTGGKGGKGGKG  
GKGGKGGKASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPIL  
TL SKMDQTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPQASGLETL  
ESLGGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGC (SEQ ID NO:85);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTHILAALPTGGGGSGGGSG  
GGSGGGSASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTL  
SKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCSLPQASGLETLES  
LGEVLEASGYSTEVALSRLQGSQDMLQQLDLSPEC (SEQ ID NO:86);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALiseILAALPTGGGGASVPIQKV  
QDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTL SKMDQTLAVYQQILT  
SMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPQASGLETLES LGGVLEASGYSTEVV  
ALSRLQGSQDMLQQLDLSPGC (SEQ ID NO:87);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALiseILAALPTGGGGSGGGSGG  
GGGGGSASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTL  
KMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPQASGLETLES  
GGVLEASGYSTEVALSRLQGSQDMLQQLDLSPGC (SEQ ID NO:88);

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTL SKMDQTLAV  
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPQASGLETLES LGGVLEASG  
YSTEVALSRLQGSQDMLQQLDLSPGCTGGGGASLAEAKEDAIKELDKYGVSDY  
YKNLINKAKTVEGVEALiseILAALP (SEQ ID NO:89);

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTL SKMDQTLAV  
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPQASGLETLES LGGVLEASG  
YSTEVALSRLQGSQDMLQQLDLSPGCTGGGGSGGGSGGGSGGGGSASLAEAKED  
AIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALiseILAALP (SEQ ID NO:90);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALISEILAALPTGGGGSGGGSGG  
GGGGGSASISIEKIQADTKTLTKTIITRIIQLSTQNGVSTDQRVSGLDIFIPGNQQFQNL  
DMDQTLAVYQQILSSLPMPDRTQISNDLENLRSLFALLATLKNCPFTRSDGLDTMEI  
WGGIVEESLYSTEVTLDRLRKS LKNIEKQLDHIQGC (SEQ ID NO:91);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALiseILAALPTGGGGSGGGSGG  
GGGGGSASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTL  
KMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPWASGLETLDS  
LGGVLEASGYSTEVALSRLQGSQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:92);

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPWASGLETLD SLGGVLEASG  
YSTE VVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGCTGGGGSGGGSGGGSGGGSSASLAEAKED  
AIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALiseILAALP (SEQ ID NO:93);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALiseILAALPTGGGGSGGGSGG  
GSGGGSSASPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTL SG  
MDQILATYQQILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCP VPRARGSDTIKGLG  
NVL RASVHSTE VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:94);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALiseILAALPTGGGGSGGGSGG  
GSGGGSSASPIQRVQDDTKTLIKTIITRINDISPPQGVSSRPRVAGLDFIPRVQSVRTL SG  
MDQILATYQQILTSLQSRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCP VPRARGSDTIKGLG  
NVL RASVHSTE VVALSRLKAALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:95);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALiseILAALPTGPIQRVQDDTKT  
LIKTIITRINDISPPQGVCSRPRVAGLDFIPRVQSVRTL SGMDQILATYQQILTSLQSRNVI  
QISNDLENLRDLLHVLA FSKSCP VPRARGSDTIKGLGNVL RASVHSTE VVALSRLKA  
ALQDMLRQLDRNPGC (SEQ ID NO:96);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALiseILAALPTGGGGSGGGSGG  
GSGGGSSASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLS  
KMDQTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPWASGLETLD S  
LGGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:97);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALiseILAALPTGGGGSGGGSGG  
GSGGGSSASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLS  
KMDQTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPQASGLETLES L  
GGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGC (SEQ ID NO:98);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALiseILAALPTGGGGSGGGSGG  
GSGGGSSASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLS  
KMDQTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPQASGLETLD S L  
GGVLEASGYSTE VVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGC (SEQ ID NO:99);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALiseILAALPTGLAEAAAKEAA  
AKEAAAKEAAAKEAAAASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQK  
VTGLEFIPGLHPILTLSKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK  
SCHLPQASGLETLES LGGVLEASGYSTEVVALSRLQGSLQDMLQQDLSPGC (SEQ  
ID NO:100);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALiseILAALPTGGEGGEGGEGG  
EGGEGGEASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILT  
SKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPQASGLETLES  
LGGVLEASGYSTEVVALSRLQGSLQDMLQQDLSPGC (SEQ ID NO:101);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALiseILAALPTGGKGGKGGKGG  
KGGKGGKASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILT  
LSKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPQASGLETLE  
SLGGVLEASGYSTEVVALSRLQGSLQDMLQQDLSPGC (SEQ ID NO:102);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALiseILAALPTGGGGSGGGSGG  
GSGGGASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILT  
KMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPQASGLETLES  
LGGVLEASGYSTEVVALSRLQGSLQDMLQQDLSPGC (SEQ ID NO:103);

MLAEAKVLANRELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTLHILAALPTGGGGSGGGSG  
GGSGGGASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILT  
SKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPQASGLETLES  
LGGVLEASGYSTEVVALSRLQGSLQDMLQQDLSPGC (SEQ ID NO:104);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKRLISKAKTVEGVKALISEILAALPTGGGGSGGGSGG  
GSGGGASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILT  
KMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSK SCHLPQASGLETLES  
LGGVLEASGYSTEVVALSRLQGSLQDMLQQDLSPGC (SEQ ID NO:105);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTLHILAAALPTGGGGSGGGSG  
 GSGGGGSASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTL  
 SKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHLPQASGLETLES  
 LGGVLEASGYSTEVVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGC (SEQ ID NO:106);

MLAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALISEILAAALPTGGGGSGGGSGG  
 GSGGGGSASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTSL  
 KMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHLPQASGLETLES  
 GGVLEASGYSTEVVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGC (SEQ ID NO:107);

KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY (SEQ ID NO:108);

KCNTATCATQRLANFLVHSSNFGAILSSTNVGSNTY (SEQ ID NO:109);

5 KCNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILPPTNVGSNTY (SEQ ID NO:110).

CGNLSTCMLGTYTQDFNKFHTFPQTAIGVGAP (SEQ ID NO:111);

CSNLSTCVLGLKLSQELHKLQTYPRNTTGSSTP (SEQ ID NO:112);

KCNTATCVLGRSLQELHRLQTYPRNTTGSNTY (SEQ ID NO:113);

GVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTLHI (SEQ ID NO:114);

10 GVSDYYKNLINKAKTVEGVEALISEI (SEQ ID NO:115);

GGGG (SEQ ID NO:116);

GGGGG (SEQ ID NO:117);

GGGKGGGG (SEQ ID NO:118);

GGGNGSGG (SEQ ID NO:119);

15 GGGCGGGG (SEQ ID NO:120);

GPNGG (SEQ ID NO:121);

[GS]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:122), donde n es 2-10;

[GGS]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:123), donde n es 2-10;

[GGGS]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:124), donde n es 1-10;

20 [GGGG]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:125), donde n es 1-10;

[GE]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:126), donde n es 2-10;

[GGE]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:127), donde n es 2-10;

[GGGE]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:128), en el que n es 1-10;

[GGGGE]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:129), en el que n es 1-10;

25 [GD]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:130), en el que n es 2-10;

[GGD]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:131), en el que n es 2-10;

[GGGD]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:132), en el que n es 1-10;

[GGGGD]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:133), donde n es 1-10;

[GK]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:134), donde n es 2-10;

30 [GGK]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:135), donde n es 2-10;

[GGGK]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:136), donde n es 1-10;

[GGGGK]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:137), donde n es 1-10;

[GR]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:138), donde n es 2-10;

[GGR]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:139), donde n es 2-10;

35 [GGGR]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:140), donde n es 1-10;

[GGGGR]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:141), donde n es 1-10;

[GAAAK]<sub>n</sub> (SEQ ID NO:142), donde n es 1-10;

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSAKQRVTGLDFIPGLHPILSLSKMDQTLAVY

QQVLTSLPSQNVLQIANDLENLRDLLHLLAFSKSCSLPQTSGLQKPESLDGVLEASLY

STEVVALSRLQGSLQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO:143);

40 MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSAKQRVTGLDFIPGLHPILSLSKMDQTLAV  
 YQQVLTSLPSQNVLQIANDLENLRDLLHLLAFSKSCSLPQTSGLQKPESLDGVLEASL LQGSLQDILQQLDVSPEC  
 (SEQ ID NO:145); y

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTSVSAKQRVTGLDFIPGLHPILSLSKMDQTLAVY  
QQVLTSLPSQNVLQIANDLENLRDLLHLLAFSKSCSLPQTSGLQKPESLDGVLEASLY  
STEVVALSRLQGSLQDILQQLDVSPEC (SEQ ID NO:146).

MLAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVEALKHILAALPTGGGGSGGGSG  
GGSGGGSASVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTL  
SKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKKSCHLPWASGLETLD  
SLGGVLEASGYSTEVVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC (SEQ ID NO:147).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEFIPGLHPILTLKMDQTLAV  
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCSLPQASGLETLESLGEVLEASGY  
STEVVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 664).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAV  
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCSLPQASGLETLDLGGVLEASG  
YSTEVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 665).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAV  
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCSLPQASGLETLDLGEVLEASG  
YSTEVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 666).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAV  
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKKSCHLPQASGLETLDLGEVLEASG  
YSTEVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 667).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAV  
YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCSLPQASGLETLDLGGVLEASG  
YSTEVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 668).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
 YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPQASGLETLDL SGEVLEASG  
 YSTE VVALSRLQGSLQDILQQLDV SPEC (SEQ ID NO: 669).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
 YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCSLPQTSGLLETLDL SGGVLEASG  
 YSTE VVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 670).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
 YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCSLPQASGLETLES LGEVLEASGY  
 STE VVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPEC (SEQ ID NO: 671).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
 YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPQASGLETLDL SGGVLEASG  
 YSTE VVALSRLQGSLQDILQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 672).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
 YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPQASGLETLDL SGGVLEASG  
 YSTE VVALSRLQGSLQDILQQLDV SPEC (SEQ ID NO: 673).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
 YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCSLPQTSGLLETLDL SGGVLEASG  
 YSTE VVALSRLQGSLQDILQQLDV SPEC (SEQ ID NO: 674).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
 YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCSLPQTSGLLETLDL SGEVLEASGY  
 STE VVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPEC (SEQ ID NO: 675).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
 YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPQASGLETLDL SGEVLEASG  
 YSTE VVALSRLQGSLQDMLQQLDLS PGC (SEQ ID NO: 676).

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTLSKMDQTLAV  
 YQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPQASGLETLDL SGEVLEASG  
 YSTE VVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPEC (SEQ ID NO: 677).

X:-  
 Xaa<sup>1</sup>-Cys<sup>2</sup>-Asn<sup>3</sup>-Thr<sup>4</sup>-Ala<sup>5</sup>-Thr<sup>6</sup>-Cys<sup>7</sup>-Ala<sup>8</sup>-Thr<sup>9</sup>-Gln<sup>10</sup>-Arg<sup>11</sup>-Leu<sup>12</sup>-Ala<sup>13</sup>-Asn<sup>14</sup>-Phe<sup>15</sup>-Leu<sup>16</sup>-Val<sup>17</sup>-His<sup>18</sup>-Ser<sup>19</sup>-S  
 er<sup>20</sup>-Xaa<sup>21</sup>-Asn<sup>22</sup>-Phe<sup>23</sup>-Xaa<sup>24</sup>-Xaa<sup>25</sup>-Xaa<sup>26</sup>-Xaa<sup>27</sup>-Xaa<sup>28</sup>-Xaa<sup>29</sup>-Thr<sup>30</sup>-Xaa<sup>31</sup>-Val<sup>32</sup>-Gly<sup>33</sup>-Ser<sup>34</sup>-Asn<sup>35</sup>-Thr<sup>36</sup>-Tyr<sup>37</sup>-X  
 (SEQ ID NO:800)

CNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:801)  
 KCNTATCATQRLANFLVRSSKNLGPVLPPTNVGSNTY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:802)  
 CNTATCATQRLANFLVRSSKNLGPVLPPTNVGSNTY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:803)  
 KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:804)  
 CNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:805)  
 KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:806)  
 CNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:807)  
 KCNTATCATQRLANFLVHSSNNFGPILPPTNVGSNTY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:808)  
 CNTATCATQRLANFLVHSSNNFGPILPPTNVGSNTY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:809)  
 CNTATCATQRLANFLVHSSKNFGPILPPTNVGSNTY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:810)  
 CNTATCATQRLANFLVHSSNNFGPILPPTNVGSNTY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:811)  
 CNTATCATQRLANFLVHSSNNFGPILPPTNVGSNTY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:812)  
 CNTATCATQRLANFLVHSSNNFGPILPPTNVGSNTY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:813)  
 CNTATCATQRLANFLVHSSNNFGKILPPTNVGSNTY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:814)  
 CNTATCATQRLANFLVHSSNNFGPIKPPTNVGSNTY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:815)  
 CNTATCATQRLANFLVHSSNNFGPILKPTNVGSNTY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:816)  
 CNTATCATQRLANFLVHSSNNFGPILPKPTNVGSNTY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:817)

LISTADO DE SECUENCIAS

- 5 <110> AMYLIN PHARMACEUTICALS, INC.
- <120> POLIPÉPTIDOS DE FUSIÓN DE LEPTINA-ABD CON DURACIÓN AUMENTADA DE LA ACCIÓN
- 10 <130> 1317WO2
- <140> PCT/US2011/053786  
 <141> 28-09-2011
- 15 <150> 61/387.402  
 <151> 28-09-2010
- <150> 61/422.091  
 <151> 10-12-2010
- 20 <160> 817
- <170> PatentIn versión 3.5
- 25 <210> 1  
 <211> 146  
 <212> PRT  
 <213> *Mus* sp.
- 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (28)..(28)  
 <223> Puede estar presente o no
- 35 <400> 1



ES 2 641 869 T3

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
20 25 30

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

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

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

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

Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly  
100 105 110

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

Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser  
130 135 140

Pro Gly Cys  
145

<210> 3  
<211> 146  
<212> PRT  
<213> *Sus* sp.

5

<400> 3

ES 2 641 869 T3

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

Ile Val Thr Arg Ile Ser Asp Ile Ser His Met Gln Ser Val Ser Ser  
20 25 30

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

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

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

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

Pro Leu Pro Gln Ala Arg Ala Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly Gly  
100 105 110

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

Leu Gln Gly Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Leu Ser Pro  
130 135 140

Gly Cys  
145

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

5

<400> 4

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Ser Asp Ile Ser His Met Gln Ser Val Ser  
20 25 30

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

10

ES 2 641 869 T3

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

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

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

Cys Pro Leu Pro Gln Ala Arg Ala Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly  
100 105 110

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

Arg Leu Gln Gly Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Leu Ser  
130 135 140

Pro Gly Cys  
145

- <210> 5
- <211> 146
- 5 <212> PRT
- <213> *Bos* sp.
  
- <220>
- 10 <221> MOD\_RES
- <222> (28)..(28)
- <223> Puede estar presente o no
  
- <400> 5

ES 2 641 869 T3

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

Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ser  
 20 25 30

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

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

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

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

Pro Leu Pro Gln Val Arg Ala Leu Glu Ser Leu Glu Ser Leu Gly Val  
 100 105 110

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

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

Gly Cys  
 145

- <210> 6
- <211> 147
- 5 <212> PRT
- <213> *Bos* sp.
  
- <220>
- <221> MOD\_RES
- 10 <222> (29)..(29)
- <223> Puede estar presente o no
  
- <400> 6

ES 2 641 869 T3

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
 20 25 30

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

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

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

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

Cys Pro Leu Pro Gln Val Arg Ala Leu Glu Ser Leu Glu Ser Leu Gly  
 100 105 110

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

Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Leu Ser  
 130 135 140

Pro Gly Cys  
 145

<210> 7  
 <211> 167  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 7

ES 2 641 869 T3

Met His Trp Gly Thr Leu Cys Gly Phe Leu Trp Leu Trp Pro Tyr Leu  
 1 5 10 15

Phe Tyr Val Gln Ala Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys  
 20 25 30

Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr  
 35 40 45

Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro  
 50 55 60

Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala  
 65 70 75 80

Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln  
 85 90 95

Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala  
 100 105 110

Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu  
 115 120 125

Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val  
 130 135 140

Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln  
 145 150 155 160

Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
 165

5 <210> 8  
 <211> 146  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Thr o Ala

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

<400> 8

ES 2 641 869 T3

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

Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Xaa Gln Ser Val Ser Ser  
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

Gly Cys  
 145

5 <210> 9  
 <211> 147  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (28)..(28)  
 <223> Thr o Ala

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

<400> 9

ES 2 641 869 T3

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Xaa Gln Ser Val Ser  
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Cys  
 145

<210> 10  
 <211> 146  
 <212> PRT  
 <213> *Macaca mulatta*

5

<400> 10

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

Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ser  
 20 25 30

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

Leu Thr Leu Ser Gln Met Asp Gln Thr Leu Ala Ile Tyr Gln Gln Ile

10



ES 2 641 869 T3

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
20 25 30

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

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

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

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

Cys His Leu Pro Leu Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly  
100 105 110

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

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

Pro Gly Cys  
145

<210> 12  
<211> 146  
<212> PRT  
<213> *Rattus* sp.

5

<400> 12

ES 2 641 869 T3

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

Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ala  
 20 25 30

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

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

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

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

Ser Leu Pro Gln Thr Arg Gly Leu Gln Lys Pro Glu Ser Leu Asp Gly  
 100 105 110

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

Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser Pro  
 130 135 140

Glu Cys  
 145

<210> 13  
 <211> 147  
 <212> PRT  
 <213> *Rattus* sp.

<400> 13

Met Val Pro Ile His Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys

ES 2 641 869 T3

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

<210> 14  
 <211> 145  
 <212> PRT  
 <213> *Ornithorhynchus anatinus*

5

<400> 14

ES 2 641 869 T3

Ile Ser Ile Glu Lys Ile Gln Ala Asp Thr Lys Thr Leu Thr Lys Thr  
 1 5 10 15

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

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

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

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

Glu Asn Leu Arg Ser Leu Phe Ala Leu Leu Ala Thr Leu Lys Asn Cys  
 85 90 95

Pro Phe Thr Arg Ser Asp Gly Leu Asp Thr Met Glu Ile Trp Gly Gly  
 100 105 110

Ile Val Glu Glu Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Thr Leu Asp Arg  
 115 120 125

Leu Arg Lys Ser Leu Lys Asn Ile Glu Lys Gln Leu Asp His Ile Gln  
 130 135 140

Gly  
 145

<210> 15

<211> 166

<212> PRT

<213> *Ornithorhynchus anatinus*

<400> 15

5

ES 2 641 869 T3

Met Arg Cys Ile Leu Leu Tyr Gly Phe Leu Cys Val Trp Gln His Leu  
 1 5 10 15

Tyr Tyr Ser His Pro Ile Ser Ile Glu Lys Ile Gln Ala Asp Thr Lys  
 20 25 30

Thr Leu Thr Lys Thr Ile Ile Thr Arg Ile Ile Gln Leu Ser Thr Gln  
 35 40 45

Asn Gly Val Ser Thr Asp Gln Arg Val Ser Gly Leu Asp Phe Ile Pro  
 50 55 60

Gly Asn Gln Gln Phe Gln Asn Leu Ala Asp Met Asp Gln Thr Leu Ala  
 65 70 75 80

Val Tyr Gln Gln Ile Leu Ser Ser Leu Pro Met Pro Asp Arg Thr Gln  
 85 90 95

Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Ser Leu Phe Ala Leu Leu Ala  
 100 105 110

Thr Leu Lys Asn Cys Pro Phe Thr Arg Ser Asp Gly Leu Asp Thr Met  
 115 120 125

Glu Ile Trp Gly Gly Ile Val Glu Glu Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val  
 130 135 140

Val Thr Leu Asp Arg Leu Arg Lys Ser Leu Lys Asn Ile Glu Lys Gln  
 145 150 155 160

Leu Asp His Ile Gln Gly  
 165

<210> 16  
 <211> 146  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 16

ES 2 641 869 T3

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

Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ser  
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

Gly Cys  
 145

<210> 17  
 <211> 146  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 17

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

5

10

ES 2 641 869 T3

Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Ala Gln Ser Val Ser Ser  
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

Gly Cys  
 145

<210> 18

<211> 145

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 18

5

ES 2 641 869 T3

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

Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Ser Val Ser Ser Lys  
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

Cys  
 145

5 <210> 19  
 <211> 145  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 19

ES 2 641 869 T3

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

Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Ala Ser Val Ser Ser Lys  
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

Cys  
 145

- 5 <210> 20
- <211> 147
- <212> PRT
- <213> *Homo sapiens*
- 10 <400> 20

ES 2 641 869 T3

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Cys  
 145

<210> 21  
 <211> 147  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 21

ES 2 641 869 T3

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Ala Gln Ser Val Ser  
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Cys  
 145

5 <210> 22  
 <211> 146  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 22

ES 2 641 869 T3

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Ser Val Ser Ser  
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

Gly Cys  
 145

5

<210> 23  
 <211> 146  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 23



ES 2 641 869 T3

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

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

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

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

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

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

Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn Val  
 100 105 110

Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu  
 115 120 125

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

Cys  
 145

<210> 25

<211> 145

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

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

<400> 25

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

ES 2 641 869 T3

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

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

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

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

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

Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn Val  
 100 105 110

Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu  
 115 120 125

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

Cys  
 145

5 <210> 26  
 <211> 145  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
 <400> 26

ES 2 641 869 T3

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

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

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

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

Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu

65 70 75 80

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

Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn Val  
 100 105 110

Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu  
 115 120 125

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

Cys  
 145

<210> 27

<211> 146

5 <212> PRT

<213> Desconocido

<220>

10 <223> Descripción de desconocido: polipéptido de leptina de pinnipedo

<400> 27

ES 2 641 869 T3

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

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

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

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

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

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

Pro Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn  
 100 105 110

Val Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg  
 115 120 125

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

Gly Cys  
 145

5 <210> 28  
 <211> 146  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
 <400> 28



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

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

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

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

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

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

Pro Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn  
100 105 110

Val Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg  
115 120 125

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

Gly Cys  
145

<210> 30

<211> 374

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

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

<400> 30

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

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

ES 2 641 869 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ES 2 641 869 T3

275		280		285											
Tyr	Gln	Gln	Ile	Leu	Thr	Ser	Met	Pro	Ser	Arg	Asn	Val	Ile	Gln	Ile
	290					295					300				
Ser	Asn	Asp	Leu	Glu	Asn	Leu	Arg	Asp	Leu	Leu	His	Val	Leu	Ala	Phe
305					310					315					320
Ser	Lys	Ser	Cys	His	Leu	Pro	Trp	Ala	Ser	Gly	Leu	Glu	Thr	Leu	Asp
				325					330					335	
Ser	Leu	Gly	Gly	Val	Leu	Glu	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ser	Thr	Glu	Val	Val
			340					345					350		
Ala	Leu	Ser	Arg	Leu	Gln	Gly	Ser	Leu	Gln	Asp	Met	Leu	Trp	Gln	Leu
		355					360					365			
Asp	Leu	Ser	Pro	Gly	Cys										
	370														

<210> 31

<211> 147

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

10

<400> 31

ES 2 641 869 T3

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser  
 130 135 140

Pro Gly Cys  
 145

5 <210> 32  
 <211> 147  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (78)..(78)  
 <223> Cys-PEG20K

15 <400> 32



ES 2 641 869 T3

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
 20 25 30

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

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

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

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

Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly  
 100 105 110

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

Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser  
 130 135 140

Pro Gly Cys  
 145

5 <210> 34  
 <211> 26  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (5)..(5)  
 <223> Tyr o Phe

20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (8)..(8)  
 <223> Asn, Arg o Ser

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (9)..(9)

<223> Val, Ile, Leu, Met, Phe o Tyr

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 5 <222> (11)..(11)  
 <223> Asn, Ser, Glu o Asp

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 10 <222> (12)..(12)  
 <223> Arg, Lys o Asn

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 15 <222> (14)..(14)  
 <223> Lys o Arg

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 20 <222> (20)..(20)  
 <223> Asp, Asn, Gln, Glu, His, Ser, Arg o Lys

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 25 <222> (23)..(23)  
 <223> Lys, Ile o Thr

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 30 <222> (24)..(24)  
 <223> Ala, Ser, Thr, Gly, His, Leu o Asp

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 35 <222> (25)..(25)  
 <223> His, Glu o Asp

<400> 34

**Gly Val Ser Asp Xaa Tyr Lys Xaa Xaa Ile Xaa Xaa Ala Xaa Thr Val**  
**1 5 10 15**

**Glu Gly Val Xaa Ala Leu Xaa Xaa Xaa Ile**  
**20 25**

40

<210> 35  
 <211> 26  
 <212> PRT  
 45 <213> Secuencia artificial

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

50 <400> 35

ES 2 641 869 T3

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Asn Ala Lys Thr Val  
 1 5 10 15

Glu Gly Val Lys Ala Leu Ile Asp Glu Ile  
 20 25

- 5 <210> 36
- <211> 46
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
- <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (6)..(6)
- <223> Val o Glu
- 15 <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (7)..(7)
- <223> Leu, Glu o Asp
- 20 <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (9)..(9)
- <223> Asn, Leu o Ile
- 25 <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (10)..(10)
- <223> Arg o Lys
- 30 <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (13)..(13)
- <223> Asp o Lys
- 35 <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (20)..(20)
- <223> Tyr o Phe
- 40 <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (23)..(23)
- <223> Asn, Arg o Ser
- 45 <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (24)..(24)
- <223> Val, Ile, Leu, Met, Phe o Tyr
- 50 <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (26)..(26)
- <223> Asn, Ser, Glu o Asp

5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Arg, Lys o Asn

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Lys o Arg

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (35)..(35)  
 <223> Asp, Asn, Gln, Glu, His, Ser, Arg o Lys

20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (38)..(38)  
 <223> Lys, Ile o Thr

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (39)..(39)  
 <223> Ala, Ser, Thr, Gly, His, Leu o Asp

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (40)..(40)  
 <223> His, Glu o Asp

<400> 36

**Leu Ala Glu Ala Lys Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Glu Leu Xaa Lys Tyr Gly**  
 1 5 10 15

**Val Ser Asp Xaa Tyr Lys Xaa Xaa Ile Xaa Xaa Ala Xaa Thr Val Glu**  
 20 25 30

**Gly Val Xaa Ala Leu Xaa Xaa Xaa Ile Leu Ala Ala Leu Pro**  
 35 40 45

35 <210> 37  
 <211> 46  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

45 <400> 37

ES 2 641 869 T3

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly  
 1 5 10 15

Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Asn Ala Lys Thr Val Glu  
 20 25 30

Gly Val Lys Ala Leu Ile Asp Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
 35 40 45

5 <210> 38  
 <211> 46  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
 <400> 38

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly  
 1 5 10 15

Val Ser Asp Phe Tyr Lys Ser Tyr Ile Asn Arg Ala Lys Thr Val Glu  
 20 25 30

Gly Val His Thr Leu Ile Gly His Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
 35 40 45

15 <210> 39  
 <211> 46  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
 <400> 39

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly  
 1 5 10 15

Val Ser Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val Glu  
 20 25 30

Gly Val Asn Ala Leu Thr His His Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
 35 40 45

25 <210> 40  
 <211> 46  
 <212> PRT  
 30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 40

5

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly  
1 5 10 15

Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Arg Ala Arg Thr Val Glu  
20 25 30

Gly Val His Ala Leu Ile Asp His Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
35 40 45

<210> 41

<211> 46

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

15

<400> 41

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly  
1 5 10 15

Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Ile Ile Asn Arg Ala Lys Thr Val Glu  
20 25 30

Gly Val Arg Ala Leu Lys Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
35 40 45

20

<210> 42

<211> 46

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 42

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly  
1 5 10 15

Val Ser Asp Phe Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Arg Ala Lys Thr Val Glu  
20 25 30

Gly Val Ser Ser Leu Lys Gly His Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
35 40 45

30

<210> 43

<211> 46  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
 <400> 43

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly  
 1 5 10 15

Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val Glu  
 20 25 30

10 Gly Val Glu Ala Leu Thr Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
 35 40 45

<210> 44  
 <211> 46  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
 20 <400> 44

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly  
 1 5 10 15

Val Ser Asp Phe Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Arg Ala Lys Thr Val Glu  
 20 25 30

Gly Val Asp Ala Leu Ile Ala His Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
 35 40 45

25 <210> 45  
 <211> 46  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
 <400> 45

ES 2 641 869 T3

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly  
 1 5 10 15

Val Ser Asp Phe Tyr Lys Ser Leu Ile Asn Arg Ala Lys Thr Val Glu  
 20 25 30

Gly Val Asp Ala Leu Thr Ser His Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
 35 40 45

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

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

<400> 46

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly  
 1 5 10 15

Val Ser Asp Phe Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Arg Ala Lys Thr Val Glu  
 20 25 30

Gly Val Asn Ser Leu Thr Ser His Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
 35 40 45

<210> 47  
 <211> 46  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

<400> 47

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly  
 1 5 10 15

Val Ser Asp Phe Tyr Lys Asn Val Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val Glu  
 20 25 30

Gly Val Glu Ala Leu Ile Ala Asp Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
 35 40 45

<210> 48  
 <211> 46  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 48

5

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly  
1 5 10 15

Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val Glu  
20 25 30

Gly Val Gln Ala Leu Ile Ala His Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
35 40 45

<210> 49

<211> 46

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

15

<400> 49

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly  
1 5 10 15

Val Ser Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val Glu  
20 25 30

Gly Val Glu Ala Leu Lys Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
35 40 45

20

<210> 50

<211> 46

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 50

Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr Gly  
1 5 10 15

Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val Glu  
20 25 30

Gly Val Glu Ala Leu Thr Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
35 40 45

30



ES 2 641 869 T3

Met Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Lys Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr  
 35 40 45

Gly Gly Gly Gly Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr  
 50 55 60

Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His  
 65 70 75 80

Thr Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile  
 85 90 95

Pro Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu  
 100 105 110

Ala Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile  
 115 120 125

Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu  
 130 135 140

Ala Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr  
 145 150 155 160

Leu Glu Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu  
 165 170 175

Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln  
 180 185 190

Gln Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
 195 200

<210> 54

<211> 213

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

10

<400> 54

ES 2 641 869 T3

Met Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Lys Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr  
 35 40 45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 50 55 60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu  
 65 70 75 80

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser  
 85 90 95

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly Leu  
 100 105 110

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr  
 115 120 125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser  
 130 135 140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser  
 145 150 155 160

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

Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala  
 180 185 190

Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp  
 195 200 205

Leu Ser Pro Gly Cys  
 210

<210> 55  
 <211> 201  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>

5

ES 2 641 869 T3

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 55

```

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
      20                25                30

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

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

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

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

Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly
      100                105                110

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

Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser
      130                135                140

Pro Gly Cys Thr Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ser Leu Ala Glu Ala Lys
 145                150                155                160

Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly Val Ser Asp Phe Tyr
      165                170                175

Lys Arg Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val Glu Ala Leu
      180                185                190

Lys Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro
      195                200

```

5

<210> 56

<211> 213

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 641 869 T3

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 56

```

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
 20                               25                               30

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

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

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

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

Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly
 100                               105                               110

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

Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser
 130                               135                               140

Pro Gly Cys Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 145                               150                               155 160

Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ser Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn
 165                               170                               175

Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly Val Ser Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile
 180                               185                               190

Asn Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val Glu Ala Leu Lys Leu His Ile
 195                               200                               205

Leu Ala Ala Leu Pro
 210

```

ES 2 641 869 T3

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

5

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

10

<400> 57

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

ES 2 641 869 T3

Val Ser Thr Asp Gln Arg Val Ser Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Asn  
 100 105 110

Gln Gln Phe Gln Asn Leu Ala Asp Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr  
 115 120 125

Gln Gln Ile Leu Ser Ser Leu Pro Met Pro Asp Arg Thr Gln Ile Ser  
 130 135 140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Ser Leu Phe Ala Leu Leu Ala Thr Leu  
 145 150 155 160

Lys Asn Cys Pro Phe Thr Arg Ser Asp Gly Leu Asp Thr Met Glu Ile  
 165 170 175

Trp Gly Gly Ile Val Glu Glu Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Thr  
 180 185 190

Leu Asp Arg Leu Arg Lys Ser Leu Lys Asn Ile Glu Lys Gln Leu Asp  
 195 200 205

His Ile Gln Gly Cys  
 210

<210> 58

<211> 213

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 58

Met Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Lys Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr  
 35 40 45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 50 55 60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu  
 65 70 75 80

5

10

ES 2 641 869 T3

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser  
85 90 95

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu  
100 105 110

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr  
115 120 125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser  
130 135 140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser  
145 150 155 160

Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser  
165 170 175

Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala  
180 185 190

Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp  
195 200 205

Leu Ser Pro Gly Cys  
210

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

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

<400> 59

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
20 25 30

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

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

ES 2 641 869 T3

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

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

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

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

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

Pro Gly Cys Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
145 150 155 160

Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ser Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn  
165 170 175

Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly Val Ser Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile  
180 185 190

Asn Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val Glu Ala Leu Lys Leu His Ile  
195 200 205

Leu Ala Ala Leu Pro  
210

<210> 60

<211> 212

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 60

5

10

ES 2 641 869 T3

Met Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Lys Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr  
 35 40 45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 50 55 60

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

Lys Thr Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val  
 85 90 95

Cys Ser Arg Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln  
 100 105 110

Ser Val Arg Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln  
 115 120 125

Gln Ile Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn  
 130 135 140

Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys  
 145 150 155 160

Ser Cys Pro Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu  
 165 170 175

Gly Asn Val Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu  
 180 185 190

Ser Arg Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg  
 195 200 205

Asn Pro Gly Cys  
 210

<210> 61  
 <211> 212  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

ES 2 641 869 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

5

<400> 61

Met Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr  
1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
20 25 30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Lys Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr  
35 40 45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
50 55 60

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

Lys Thr Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val  
85 90 95

Ser Ser Arg Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln  
100 105 110

Ser Val Arg Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln  
115 120 125

Gln Ile Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn  
130 135 140

Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys  
145 150 155 160

Ser Cys Pro Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu  
165 170 175

Gly Asn Val Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu  
180 185 190

Ser Arg Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg  
195 200 205

Asn Pro Gly Cys  
210

<210> 62  
 <211> 193  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

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

<400> 62

10

```

Met  Leu  Ala  Glu  Ala  Lys  Val  Leu  Ala  Asn  Arg  Glu  Leu  Asp  Lys  Tyr
1      5      10      15

Gly  Val  Ser  Asp  Phe  Tyr  Lys  Arg  Leu  Ile  Asn  Lys  Ala  Lys  Thr  Val
20      25      30

Glu  Gly  Val  Glu  Ala  Leu  Lys  Leu  His  Ile  Leu  Ala  Ala  Leu  Pro  Thr
35      40      45

Gly  Pro  Ile  Gln  Arg  Val  Gln  Asp  Asp  Thr  Lys  Thr  Leu  Ile  Lys  Thr
50      55      60

Ile  Ile  Thr  Arg  Ile  Asn  Asp  Ile  Ser  Pro  Pro  Gln  Gly  Val  Cys  Ser
65      70      75      80

Pro  Arg  Val  Ala  Gly  Leu  Asp  Phe  Ile  Pro  Arg  Val  Gln  Ser  Val  Arg
85      90      95

Thr  Leu  Ser  Gly  Met  Asp  Gln  Ile  Leu  Ala  Thr  Tyr  Gln  Gln  Ile  Leu
100     105     110

Thr  Ser  Leu  Gln  Ser  Arg  Asn  Val  Ile  Gln  Ile  Ser  Asn  Asp  Leu  Glu
115     120     125

Asn  Leu  Arg  Asp  Leu  Leu  His  Val  Leu  Ala  Phe  Ser  Lys  Ser  Cys  Pro
130     135     140

Val  Pro  Arg  Ala  Arg  Gly  Ser  Asp  Thr  Ile  Lys  Gly  Leu  Gly  Asn  Val
145     150     155     160

Leu  Arg  Ala  Ser  Val  His  Ser  Thr  Glu  Val  Val  Ala  Leu  Ser  Arg  Leu
165     170     175

Lys  Ala  Ala  Leu  Gln  Asp  Met  Leu  Arg  Gln  Leu  Asp  Arg  Asn  Pro  Gly
180     185     190

Cys
    
```

<210> 63

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

5 <220>  
<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
  
<400> 63

ES 2 641 869 T3

Met Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Ile Ile Asn Arg Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

Glu Gly Val Arg Ala Leu Lys Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr  
 35 40 45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 50 55 60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu  
 65 70 75 80

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser  
 85 90 95

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu  
 100 105 110

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr  
 115 120 125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser  
 130 135 140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser  
 145 150 155 160

Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser  
 165 170 175

Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala  
 180 185 190

Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp  
 195 200 205

Leu Ser Pro Gly Cys  
 210

<210> 64  
 <211> 213  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 641 869 T3

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 64

5

```

Met Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr
1                               5                10                15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Ile Ile Asn Arg Ala Lys Thr Val
                               20                25                30

Glu Gly Val Arg Ala Leu Lys Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr
35                               40                45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
50                               55                60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu
65                               70                75                80

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser
85                               90                95

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly Leu
100                              105                110

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr
115                              120                125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser
130                              135                140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser
145                              150                155                160

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

Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala
180                              185                190

Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp
195                              200                205

Leu Ser Pro Gly Cys
210

```

<210> 65

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

5 <220>  
<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
  
<400> 65

ES 2 641 869 T3

Met Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Lys Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr  
 35 40 45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 50 55 60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu  
 65 70 75 80

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser  
 85 90 95

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu  
 100 105 110

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr  
 115 120 125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser  
 130 135 140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser  
 145 150 155 160

Lys Ser Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser  
 165 170 175

Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala  
 180 185 190

Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp  
 195 200 205

Leu Ser Pro Gly Cys  
 210

<210> 66

<211> 227

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 66

ES 2 641 869 T3

Met Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Lys Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr  
 35 40 45

Gly Leu Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala  
 50 55 60

Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Ala Ala Ala  
 65 70 75 80

Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys  
 85 90 95

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
 100 105 110

Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly Leu His Pro  
 115 120 125

Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln  
 130 135 140

Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp  
 145 150 155 160

Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser  
 165 170 175

Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly  
 180 185 190

Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser  
 195 200 205

Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser  
 210 215 220

Pro Gly Cys  
 225

<210> 67  
 <211> 214

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 67

ES 2 641 869 T3

Met Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Lys Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr  
 35 40 45

Gly Gly Glu Gly  
 50 55 60

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

Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln  
 85 90 95

Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly  
 100 105 110

Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val  
 115 120 125

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

Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe  
 145 150 155 160

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

Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val  
 180 185 190

Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu  
 195 200 205

Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
 210

<210> 68  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>

5

ES 2 641 869 T3

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
 <400> 68

```

Met Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr
1           5           10           15

Gly Val Ser Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val
20           25           30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Lys Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr
35           40           45

Gly Gly Lys Gly
50           55           60

Gly Lys Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr
65           70           75           80

Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln
85           90           95

Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly
100          105          110

Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val
115          120          125

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

Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe
145          150          155          160

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

Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val
180          185          190

Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu
195          200          205

Asp Leu Ser Pro Gly Cys
210
  
```

5

<210> 69  
 <211> 213  
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

5

<400> 69

```

Met Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr
 1                               10                      15

Gly Val Ser Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val
                20                      25                      30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Lys Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr
          35                      40                      45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 50                      55                      60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu
 65                      70                      75                      80

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser
                85                      90                      95

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly Leu
                100                      105                      110

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr
                115                      120                      125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser
 130                      135                      140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser
 145                      150                      155                      160

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

Leu Gly Glu Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala
                180                      185                      190

Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp

```

195

200

205

Leu Ser Pro Glu Cys  
210

5 <210> 70  
<211> 200  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
<400> 70

ES 2 641 869 T3

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Thr Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr  
 35 40 45

Gly Gly Gly Gly Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr  
 50 55 60

Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His  
 65 70 75 80

Thr Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile  
 85 90 95

Pro Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu  
 100 105 110

Ala Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile  
 115 120 125

Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu  
 130 135 140

Ala Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr  
 145 150 155 160

Leu Glu Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu  
 165 170 175

Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln  
 180 185 190

Gln Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
 195 200

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

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

<400> 71

ES 2 641 869 T3

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Thr Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr  
 35 40 45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 50 55 60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu  
 65 70 75 80

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser  
 85 90 95

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly Leu  
 100 105 110

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr  
 115 120 125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser  
 130 135 140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser  
 145 150 155 160

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

Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala  
 180 185 190

Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp  
 195 200 205

Leu Ser Pro Gly Cys  
 210

<210> 72  
 <211> 201  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 72

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
20 25 30

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

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

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

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

Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly  
100 105 110

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

Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser  
130 135 140

Pro Gly Cys Thr Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ser Leu Ala Glu Ala Lys  
145 150 155 160

Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr Gly Val Ser Asp Tyr Tyr  
165 170 175

Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val Glu Ala Leu  
180 185 190

Thr Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
195 200

5

<210> 73

<211> 213

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 641 869 T3

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 73

```

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
20          25          30

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

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

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

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

Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly
100         105         110

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

Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser
130        135        140

Pro Gly Cys Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
145        150        155        160

Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ser Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile
165        170        175

Lys Glu Leu Asp Lys Tyr Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile
180        185        190

Asn Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val Glu Ala Leu Thr Leu His Ile
195        200        205

Leu Ala Ala Leu Pro
210

```

ES 2 641 869 T3

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

5

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

<400> 74

10

```

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr
1           5           10           15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val
          20           25           30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Thr Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr
          35           40           45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
50           55           60

Ser Ala Ser Ile Ser Ile Glu Lys Ile Gln Ala Asp Thr Lys Thr Leu
65           70           75           80

Thr Lys Thr Ile Ile Thr Arg Ile Ile Gln Leu Ser Thr Gln Asn Gly
          85           90           95

Val Ser Thr Asp Gln Arg Val Ser Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Asn
          100          105          110

Gln Gln Phe Gln Asn Leu Ala Asp Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr
          115          120          125

Gln Gln Ile Leu Ser Ser Leu Pro Met Pro Asp Arg Thr Gln Ile Ser
          130          135          140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Ser Leu Phe Ala Leu Leu Ala Thr Leu
145          150          155          160

Lys Asn Cys Pro Phe Thr Arg Ser Asp Gly Leu Asp Thr Met Glu Ile
          165          170          175
    
```

ES 2 641 869 T3

Trp Gly Gly Ile Val Glu Glu Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Thr  
 180 185 190

Leu Asp Arg Leu Arg Lys Ser Leu Lys Asn Ile Glu Lys Gln Leu Asp  
 195 200 205

His Ile Gln Gly Cys  
 210

<210> 75

<211> 213

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

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

<400> 75

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Thr Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr  
 35 40 45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 50 55 60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu  
 65 70 75 80

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser  
 85 90 95

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu  
 100 105 110

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr  
 115 120 125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser  
 130 135 140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser  
 145 150 155 160

ES 2 641 869 T3

Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser  
 165 170 175

Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala  
 180 185 190

Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp  
 195 200 205

Leu Ser Pro Gly Cys  
 210

<210> 76

<211> 213

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 76

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

5

10

ES 2 641 869 T3

Pro Gly Cys Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
145 150 155 160

Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ser Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile  
165 170 175

Lys Glu Leu Asp Lys Tyr Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile  
180 185 190

Asn Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val Glu Ala Leu Thr Leu His Ile  
195 200 205

Leu Ala Ala Leu Pro  
210

<210> 77

<211> 212

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 77

ES 2 641 869 T3

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Thr Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr  
 35 40 45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 50 55 60

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

Lys Thr Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val  
 85 90 95

Cys Ser Arg Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln  
 100 105 110

Ser Val Arg Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln  
 115 120 125

Gln Ile Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn  
 130 135 140

Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys  
 145 150 155 160

Ser Cys Pro Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu  
 165 170 175

Gly Asn Val Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu  
 180 185 190

Ser Arg Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg  
 195 200 205

Asn Pro Gly Cys  
 210

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

ES 2 641 869 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

5

<400> 78

```

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr
 1                               5                               10                               15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val
                               20                               25                               30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Thr Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr
                               35                               40                               45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 50                               55                               60

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

Lys Thr Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val
                               85                               90                               95

Ser Ser Arg Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln
                               100                              105                              110

Ser Val Arg Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln
                               115                              120                              125

Gln Ile Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn
 130                              135                              140

Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys
 145                              150                              155                              160

Ser Cys Pro Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu
                               165                              170                              175

Gly Asn Val Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu
                               180                              185                              190

Ser Arg Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg
                               195                              200                              205

Asn Pro Gly Cys
 210
    
```

ES 2 641 869 T3

<210> 79  
 <211> 193  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

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

<400> 79

10

```

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr
 1                               5                               10          15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val
                20                               25          30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Thr Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr
          35                               40          45

Gly Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 50                               55          60

Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Cys Ser
 65                               70          75          80

Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val Arg
                85                               90          95

Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile Leu
          100                               105          110

Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu
          115                               120          125

Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys Pro
 130                               135          140

Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn Val
 145                               150          155          160

Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
                165                               170          175

Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro Gly
          180                               185          190
    
```

Cys

<210> 80

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

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

<400> 80

```

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr
1           5           10           15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val
           20           25           30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Thr Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr
           35           40           45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
50           55           60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu
65           70           75           80

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser
           85           90           95

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu
           100          105          110
    
```

10

ES 2 641 869 T3

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr  
 115 120 125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser  
 130 135 140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser  
 145 150 155 160

Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser  
 165 170 175

Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala  
 180 185 190

Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp  
 195 200 205

Leu Ser Pro Gly Cys  
 210

<210> 81

<211> 213

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

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

<400> 81

ES 2 641 869 T3

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Thr Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr  
 35 40 45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 50 55 60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu  
 65 70 75 80

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser  
 85 90 95

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly Leu  
 100 105 110

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr  
 115 120 125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser  
 130 135 140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser  
 145 150 155 160

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

Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala  
 180 185 190

Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp  
 195 200 205

Leu Ser Pro Gly Cys  
 210

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

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

5

<400> 82

```

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr
 1           5           10           15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val
          20           25           30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Thr Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr
          35           40           45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 50           55           60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu
65           70           75           80

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser
          85           90           95

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu
          100          105          110

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr
          115          120          125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser
          130          135          140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser
145          150          155          160

Lys Ser Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser
          165          170          175

Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala
          180          185          190

Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp
          195          200          205

Leu Ser Pro Gly Cys
210

```

<210> 83  
 <211> 227  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

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

<400> 83

10

```

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr
 1           5           10           15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val
           20           25           30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Thr Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr
           35           40           45

Gly Leu Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala
 50           55           60

Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Ala Ala Ala
65           70           75           80
    
```

ES 2 641 869 T3

Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys  
85 90 95

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
100 105 110

Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly Leu His Pro  
115 120 125

Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln  
130 135 140

Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp  
145 150 155 160

Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser  
165 170 175

Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly  
180 185 190

Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser  
195 200 205

Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser  
210 215 220

Pro Gly Cys  
225

<210> 84

<211> 214

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

10

<400> 84

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr  
1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
20 25 30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Thr Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr  
35 40 45

ES 2 641 869 T3

Gly Gly Glu Gly  
50 55 60

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

Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln  
85 90 95

Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly  
100 105 110

Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val  
115 120 125

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

Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe  
145 150 155 160

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

Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val  
180 185 190

Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu  
195 200 205

Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
210

<210> 85

<211> 214

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

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

<400> 85

ES 2 641 869 T3

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Thr Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr  
 35 40 45

Gly Gly Lys Gly  
 50 55 60

Gly Lys Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr  
 65 70 75 80

Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln  
 85 90 95

Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly  
 100 105 110

Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val  
 115 120 125

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

Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe  
 145 150 155 160

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

Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val  
 180 185 190

Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu  
 195 200 205

Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
 210

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

ES 2 641 869 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

5 <400> 86

```

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr
 1                               5                               10          15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val
                20                               25          30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Thr Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr
                35                               40          45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 50                               55          60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu
65                               70          75          80

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser
                85                               90          95

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly Leu
                100                              105          110

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr
                115                              120          125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser
 130                              135          140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser
145                              150          155          160

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

Leu Gly Glu Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala
                180                              185          190

Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp
 195                              200          205

Leu Ser Pro Glu Cys
 210

```

<210> 87

<211> 200  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

<400> 87

```

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr
 1           5           10           15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val
           20           25           30

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

Gly Gly Gly Gly Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr
 50           55           60

Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His
 65           70           75           80

Thr Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile
           85           90           95

Pro Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu
           100          105          110

Ala Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile
           115          120          125

Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu
 130           135          140

Ala Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr
 145           150          155          160

Leu Glu Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu
           165          170          175

Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln
           180          185          190

Gln Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys
           195          200
    
```

10 <210> 88  
 <211> 213

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 88

ES 2 641 869 T3

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

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

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 50 55 60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu  
 65 70 75 80

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser  
 85 90 95

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly Leu  
 100 105 110

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr  
 115 120 125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser  
 130 135 140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser  
 145 150 155 160

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

Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala  
 180 185 190

Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp  
 195 200 205

Leu Ser Pro Gly Cys  
 210

<210> 89  
 <211> 201  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>

5

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 89

5

```

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
      20           25           30

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

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

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

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

Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly
      100          105          110

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

Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser
      130          135          140

Pro Gly Cys Thr Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ser Leu Ala Glu Ala Lys
      145          150          155          160

Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr Gly Val Ser Asp Tyr Tyr
      165          170          175

Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val Glu Ala Leu
      180          185          190

Ile Ser Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro
      195          200
    
```

<210> 90

<211> 213

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

ES 2 641 869 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

5

<400> 90

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
20 25 30

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

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

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

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

Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly  
100 105 110

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

Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser  
130 135 140

Pro Gly Cys Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
145 150 155 160

Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ser Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile  
165 170 175

Lys Glu Leu Asp Lys Tyr Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile  
180 185 190

Asn Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val Glu Ala Leu Ile Ser Glu Ile  
195 200 205

Leu Ala Ala Leu Pro  
210

<210> 91

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

5 <220>  
<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
  
<400> 91

ES 2 641 869 T3

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

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

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 50 55 60

Ser Ala Ser Ile Ser Ile Glu Lys Ile Gln Ala Asp Thr Lys Thr Leu  
 65 70 75 80

Thr Lys Thr Ile Ile Thr Arg Ile Ile Gln Leu Ser Thr Gln Asn Gly  
 85 90 95

Val Ser Thr Asp Gln Arg Val Ser Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Asn  
 100 105 110

Gln Gln Phe Gln Asn Leu Ala Asp Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr  
 115 120 125

Gln Gln Ile Leu Ser Ser Leu Pro Met Pro Asp Arg Thr Gln Ile Ser  
 130 135 140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Ser Leu Phe Ala Leu Leu Ala Thr Leu  
 145 150 155 160

Lys Asn Cys Pro Phe Thr Arg Ser Asp Gly Leu Asp Thr Met Glu Ile  
 165 170 175

Trp Gly Gly Ile Val Glu Glu Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Thr  
 180 185 190

Leu Asp Arg Leu Arg Lys Ser Leu Lys Asn Ile Glu Lys Gln Leu Asp  
 195 200 205

His Ile Gln Gly Cys  
 210

<210> 92  
 <211> 213  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>

5

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 92

```

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr
1           5           10           15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val
           20           25           30

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

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
           50           55           60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu
65           70           75           80

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser
           85           90           95

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu
           100          105          110

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr
           115          120          125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser
           130          135          140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser
145          150          155          160

Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser
           165          170          175

Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala
           180          185          190

Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp
           195          200          205

Leu Ser Pro Gly Cys
210

```

5

<210> 93

<211> 213

ES 2 641 869 T3

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

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

<400> 93

```

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
          20              25              30

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Cys Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
145             150             155             160

Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ser Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile
165             170             175

Lys Glu Leu Asp Lys Tyr Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile
180             185             190

Asn Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val Glu Ala Leu Ile Ser Glu Ile
195             200             205

Leu Ala Ala Leu Pro
210

```

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

5

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

10

<400> 94

ES 2 641 869 T3

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

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

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 50 55 60

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

Lys Thr Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val  
 85 90 95

Cys Ser Arg Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln  
 100 105 110

Ser Val Arg Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln  
 115 120 125

Gln Ile Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn  
 130 135 140

Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys  
 145 150 155 160

Ser Cys Pro Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu  
 165 170 175

Gly Asn Val Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu  
 180 185 190

Ser Arg Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg  
 195 200 205

Asn Pro Gly Cys

210

<210> 95  
 <211> 212  
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

5

<400> 95

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr  
1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
20 25 30

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

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
50 55 60

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

Lys Thr Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val  
85 90 95

Ser Ser Arg Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln  
100 105 110

Ser Val Arg Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln  
115 120 125

Gln Ile Leu Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn  
130 135 140

Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys  
145 150 155 160

Ser Cys Pro Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu  
165 170 175

Gly Asn Val Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu  
180 185 190

Ser Arg Leu Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg  
195 200 205

Asn Pro Gly Cys  
210

ES 2 641 869 T3

5 <210> 96  
 <211> 193  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

10 <400> 96

```

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr
 1           5           10           15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val
          20           25           30

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

Gly Pro Ile Gln Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
 50           55           60

Ile Ile Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser Pro Pro Gln Gly Val Cys Ser
65           70           75           80

Pro Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Arg Val Gln Ser Val Arg
          85           90           95

Thr Leu Ser Gly Met Asp Gln Ile Leu Ala Thr Tyr Gln Gln Ile Leu
          100          105          110

Thr Ser Leu Gln Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu
          115          120          125

Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys Pro
130          135          140

Val Pro Arg Ala Arg Gly Ser Asp Thr Ile Lys Gly Leu Gly Asn Val
145          150          155          160

Leu Arg Ala Ser Val His Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu
          165          170          175

Lys Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Arg Asn Pro Gly
180          185          190

Cys
  
```

15 <210> 97

ES 2 641 869 T3

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

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

<400> 97

```

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr
 1           5           10           15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val
          20           25           30

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

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 50           55           60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu
65           70           75           80

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser
          85           90           95

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu
          100          105          110

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr
          115          120          125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser
130          135          140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser
145          150          155          160

Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser
          165          170          175

Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala
180          185          190
    
```

10

**Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp**  
195 200 205

**Leu Ser Pro Gly Cys**  
210

- <210> 98
- <211> 213
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
  
- <220>
- 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
  
- <400> 98

ES 2 641 869 T3

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

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

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 50 55 60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu  
 65 70 75 80

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser  
 85 90 95

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly Leu  
 100 105 110

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr  
 115 120 125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser  
 130 135 140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser  
 145 150 155 160

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

Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala  
 180 185 190

Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp  
 195 200 205

Leu Ser Pro Gly Cys  
 210

<210> 99

<211> 213

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

5

&lt;400&gt; 99

```

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr
1           5           10           15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val
          20           25           30

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

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
50           55           60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu
65           70           75           80

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser
          85           90           95

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu
          100          105          110

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr
          115          120          125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser
130          135          140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser
145          150          155          160

Lys Ser Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser
          165          170          175

Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala
          180          185          190

Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp
          195          200          205

Leu Ser Pro Gly Cys
210

```

ES 2 641 869 T3

<210> 100  
 <211> 227  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

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

<400> 100

10

```

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr
1           5           10           15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val
          20           25           30

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

Gly Leu Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala
50           55           60

Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Ala Ala Ala
65           70           75           80

Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
          85           90           95

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
          100          105          110

Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly Leu His Pro
          115          120          125

Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln
130           135           140

Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp
145           150           155           160
    
```

ES 2 641 869 T3

Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser  
 165 170 175

Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly  
 180 185 190

Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser  
 195 200 205

Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser  
 210 215 220

Pro Gly Cys  
 225

<210> 101

<211> 214

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 101

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

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

Gly Gly Glu Gly  
 50 55 60

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

Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln  
 85 90 95

Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly  
 100 105 110

Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val  
 115 120 125

ES 2 641 869 T3

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

Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe  
 145 150 155 160

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

Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val  
 180 185 190

Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu  
 195 200 205

Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
 210

<210> 102

<211> 214

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

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

<400> 102

ES 2 641 869 T3

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

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

Gly Gly Lys Gly  
 50 55 60

Gly Lys Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr  
 65 70 75 80

Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln  
 85 90 95

Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly  
 100 105 110

Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val  
 115 120 125

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

Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe  
 145 150 155 160

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

Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val  
 180 185 190

Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu  
 195 200 205

Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
 210

<210> 103

<211> 213

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 641 869 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

5 <400> 103

```

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr
 1                               5                               10                               15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val
                               20                               25                               30

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

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 50                               55                               60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu
 65                               70                               75                               80

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser
                               85                               90                               95

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly Leu
                               100                              105                              110

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr
                               115                              120                              125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser
 130                              135                              140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser
 145                              150                              155                              160

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

Leu Gly Glu Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala
                               180                              185                              190

Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp
 195                              200                              205

Leu Ser Pro Glu Cys
 210

```

ES 2 641 869 T3

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

5

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

<400> 104

10

```

Met Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr
 1                               5                               10
                                     15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val
                20                               25                               30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Thr Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr
                35                               40                               45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 50                               55                               60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu
65                               70                               75                               80

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser
                85                               90                               95
    
```

ES 2 641 869 T3

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly Leu  
 100 105 110

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr  
 115 120 125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser  
 130 135 140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser  
 145 150 155 160

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

Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala  
 180 185 190

Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp  
 195 200 205

Leu Ser Pro Gly Cys  
 210

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

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

<400> 105

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Arg Leu Ile Ser Lys Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

Glu Gly Val Lys Ala Leu Ile Ser Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr  
 35 40 45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 50 55 60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu  
 65 70 75 80

ES 2 641 869 T3

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser  
85 90 95

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly Leu  
100 105 110

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr  
115 120 125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser  
130 135 140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser  
145 150 155 160

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

Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala  
180 185 190

Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp  
195 200 205

Leu Ser Pro Gly Cys  
210

<210> 106

<211> 213

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

10

<400> 106

ES 2 641 869 T3

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Thr Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr  
 35 40 45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 50 55 60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu  
 65 70 75 80

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser  
 85 90 95

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly Leu  
 100 105 110

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr  
 115 120 125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser  
 130 135 140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser  
 145 150 155 160

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

Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala  
 180 185 190

Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp  
 195 200 205

Leu Ser Pro Gly Cys  
 210

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

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

5 <400> 107

```

Met Leu Ala Glu Ala Lys Glu Asp Ala Ile Lys Glu Leu Asp Lys Tyr
 1                               5                               10                               15

Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val
                20                               25                               30

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

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 50                               55                               60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu
65                               70                               75                               80

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser
                85                               90                               95

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Glu Phe Ile Pro Gly Leu
                100                               105                               110

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr
                115                               120                               125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser
130                               135                               140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser
145                               150                               155                               160

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

Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala
                180                               185                               190

Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp
195                               200                               205

Leu Ser Pro Gly Cys
210

```

ES 2 641 869 T3

<210> 108  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Rattus sp.*

5

<400> 108

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

10

<210> 109  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 109

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

20

<210> 110  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25

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

<400> 110

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

30

<210> 111  
 <211> 32

ES 2 641 869 T3

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 111

5

Cys Gly Asn Leu Ser Thr Cys Met Leu Gly Thr Tyr Thr Gln Asp Phe  
1 5 10 15

Asn Lys Phe His Thr Phe Pro Gln Thr Ala Ile Gly Val Gly Ala Pro  
20 25 30

<210> 112

<211> 32

10

<212> PRT

<213> *Oncorhynchus* sp.

<400> 112

Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu  
1 5 10 15

His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Gly Thr Pro  
20 25 30

15

<210> 113

<211> 32

20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

25

<400> 113

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu  
1 5 10 15

His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
20 25 30

30

<210> 114

<211> 26

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

35

<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<400> 114

ES 2 641 869 T3

**Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val**  
1 5 10 15

**Glu Gly Val Glu Ala Leu Thr Leu His Ile**  
20 25

5 <210> 115  
<211> 26  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
10 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético  
  
<400> 115

**Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val**  
1 5 10 15

**Glu Gly Val Glu Ala Leu Ile Ser Glu Ile**  
20 25

15 <210> 116  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
20 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético  
  
<400> 116

**Gly Gly Gly Gly**  
1

25  
  
30 <210> 117  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético  
  
35 <400> 117

**Gly Gly Gly Gly Gly**  
1 5

40 <210> 118  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
45 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<400> 118

**Gly Gly Gly Lys Gly Gly Gly Gly**  
**1 5**

5

<210> 119

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<400> 119

15

**Gly Gly Gly Asn Gly Ser Gly Gly**  
**1 5**

<210> 120

<211> 8

20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

25

<400> 120

**Gly Gly Gly Cys Gly Gly Gly Gly**  
**1 5**

30

<210> 121

<211> 5

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<400> 121

**Gly Pro Asn Gly Gly**  
**1 5**

40

<210> 122

<211> 20

<212> PRT

45

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

50

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)..(20)

<223> Esta región puede abarcar repeticiones1-10 "Gly Ser"

<400> 122

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

**Gly Ser Gly Ser**  
**20**

5

<210> 123

<211> 30

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

15

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)..(30)

<223> Esta región puede abarcar repeticiones1-10 "Gly Gly Ser"

20

<400> 123

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

**Gly Ser Gly Gly Ser**  
**20 25 30**

25

<210> 124

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

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

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)..(40)

35 <223> Esta región puede abarcar repeticiones1-10 "Gly Gly Gly Ser"

<400> 124

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

**Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser**  
**20 25 30**

**Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser**  
**35 40**

5 <210> 125  
 <211> 50  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

10 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(50)  
 <223> Esta región puede abarcar repeticiones1-10 "Gly Gly Gly Gly Ser"

15 <400> 125

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
 20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 35 40 45

Gly Ser  
 50

20 <210> 126  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

30 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(20)  
 <223> Esta región puede abarcar repeticiones1-10 "Gly Glu"

<400> 126

Gly Glu  
 1 5 10 15

Gly Glu Gly Glu  
 20

35 <210> 127  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>

<221> misc\_feature

5 <222> (1)..(30)

<223> Esta región puede abarcar repeticiones1-10 "Gly Gly Glu"

<400> 127

Gly Gly Glu Gly  
1 5 10 15

Gly Glu Gly Gly Glu Gly Gly Glu Gly Gly Glu Gly Gly Glu  
20 25 30

10

<210> 128

<211> 40

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

20

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)..(40)

<223> Esta región puede abarcar repeticiones1-10 "Gly Gly Gly Glu"

25

<400> 128

Gly Gly Gly Glu Gly Gly Gly Glu Gly Gly Gly Glu Gly Gly Gly Glu  
1 5 10 15

Gly Gly Gly Glu Gly Gly Gly Glu Gly Gly Gly Glu Gly Gly Gly Glu  
20 25 30

Gly Gly Gly Glu Gly Gly Gly Glu  
35 40

30

<210> 129

<211> 50

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

35 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)..(50)

40 <223> Esta región puede abarcar repeticiones1-10 "Gly Gly Gly Gly Glu"

<400> 129

**Gly Gly Gly Gly Glu Gly Gly Gly Gly Glu Gly Gly Gly Gly Glu Gly**  
**1 5 10 15**

**Gly Gly Gly Glu Gly Gly Gly Gly Glu Gly Gly Gly Gly Glu Gly Gly**  
**20 25 30**

**Gly Gly Glu Gly Gly Gly Gly Glu Gly Gly Gly Gly Glu Gly Gly Gly**  
**35 40 45**

**Gly Glu**  
**50**

5 <210> 130  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

15 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(20)  
 <223> Esta región puede abarcar repeticiones1-10 "Gly Asp"

<400> 130

**Gly Asp Gly Asp**  
**1 5 10 15**

**Gly Asp Gly Asp**  
**20**

20 <210> 131  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

30 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(30)  
 <223> Esta región puede abarcar repeticiones1-10 "Gly Gly Asp"

<400> 131

**Gly Gly Asp Gly Gly Asp Gly Gly Asp Gly Gly Asp Gly Gly Asp Gly**  
**1 5 10 15**

**Gly Asp Gly Gly Asp Gly Gly Asp Gly Gly Asp Gly Gly Asp**  
**20 25 30**

35



<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

5

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)..(20)

<223> Esta región puede abarcar repeticiones1-10 "Gly Lys"

10

<400> 134

**Gly Lys Gly Lys**  
**1 5 10 15**

**Gly Lys Gly Lys**  
**20**

15

<210> 135

<211> 30

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>

<221> misc\_feature

25

<222> (1)..(30)

<223> Esta región puede abarcar repeticiones1-10 "Gly Gly Lys"

<400> 135

**Gly Gly Lys Gly Gly Lys Gly Gly Lys Gly Gly Lys Gly Gly Lys Gly**  
**1 5 10 15**

**Gly Lys Gly Gly Lys Gly Gly Lys Gly Gly Lys Gly Gly Lys**  
**20 25 30**

30

<210> 136

<211> 40

<212> PRT

35

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

40

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)..(40)

<223> Esta región puede abarcar repeticiones1-10 "Gly Gly Gly Lys"

45

<400> 136

Gly Gly Gly Lys Gly Gly Gly Lys Gly Gly Gly Lys Gly Gly Gly Lys  
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Lys Gly Gly Gly Lys Gly Gly Gly Lys Gly Gly Gly Lys  
 20 25 30

Gly Gly Gly Lys Gly Gly Gly Lys  
 35 40

5 <210> 137  
 <211> 50  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

15 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(50)  
 <223> Esta región puede abarcar repeticiones1-10 "Gly Gly Gly Gly Lys"

<400> 137

Gly Gly Gly Gly Lys Gly Gly Gly Gly Lys Gly Gly Gly Gly Lys Gly  
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Lys Gly Gly Gly Gly Lys Gly Gly Gly Gly Lys Gly Gly  
 20 25 30

Gly Gly Lys Gly Gly Gly Gly Lys Gly Gly Gly Gly Lys Gly Gly Gly  
 35 40 45

Gly Lys  
 50

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

25 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

30 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(20)  
 <223> Esta región puede abarcar repeticiones1-10 "Gly Arg"

<400> 138

Gly Arg  
 1 5 10 15

Gly Arg Gly Arg  
 20

5 <210> 139  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

15 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(30)  
 <223> Esta región puede abarcar repeticiones1-10 "Gly Gly Arg"

<400> 139

Gly Gly Arg Gly  
 1 5 10 15

Gly Arg Gly Gly Arg  
 20 25 30

20 <210> 140  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

30 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(40)  
 <223> Esta región puede abarcar repeticiones1-10 "Gly Gly Gly Arg"

<400> 140

Gly Gly Gly Arg Gly Gly Gly Arg Gly Gly Gly Arg Gly Gly Gly Arg  
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Arg Gly Gly Gly Arg Gly Gly Gly Arg Gly Gly Gly Arg  
 20 25 30

Gly Gly Gly Arg Gly Gly Gly Arg  
 35 40

35 <210> 141  
 <211> 50  
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

5

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)..(50)

<223> Esta región puede abarcar repeticiones1-10 "Gly Gly Gly Gly Arg"

10

<400> 141

**Gly Gly Gly Gly Arg Gly Gly Gly Gly Arg Gly Gly Gly Gly Arg Gly**  
**1 5 10 15**

**Gly Gly Gly Arg Gly Gly Gly Gly Arg Gly Gly Gly Gly Arg Gly Gly**  
**20 25 30**

**Gly Gly Arg Gly Gly Gly Gly Arg Gly Gly Gly Gly Arg Gly Gly Gly**  
**35 40 45**

**Gly Arg**  
**50**

15

<210> 142

<211> 50

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>

<221> misc\_feature

25

<222> (1)..(50)

<223> Esta región puede abarcar repeticiones1-10 "Glu Ala Ala Ala Lys"

<400> 142

**Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu**  
**1 5 10 15**

**Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala**  
**20 25 30**

**Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala**  
**35 40 45**

**Ala Lys**  
**50**

30

<210> 143

<211> 146

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

<400> 143

5

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

Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ala  
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

Glu Cys  
 145

<210> 144  
 <211> 145  
 <212> PRT  
 <213> *Mus* sp.

10

<400> 144

ES 2 641 869 T3

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

Cys

145

5  
 <210> 145  
 <211> 147  
 <212> PRT  
 <213> *Mus* sp.  
 <400> 145

ES 2 641 869 T3

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

Pro Glu Cys  
 145

<210> 146

<211> 146

5 <212> PRT

<213> *Mus* sp.

<400> 146

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Ser Val Ser Ala  
 20 25 30

10

ES 2 641 869 T3

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

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

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

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

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

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

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

Glu Cys  
 145

<210> 147

<211> 213

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 147

5

10

ES 2 641 869 T3

Met Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr  
 1 5 10 15

Gly Val Ser Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val  
 20 25 30

Glu Gly Val Glu Ala Leu Lys Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro Thr  
 35 40 45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 50 55 60

Ser Ala Ser Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu  
 65 70 75 80

Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser  
 85 90 95

Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu  
 100 105 110

His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr  
 115 120 125

Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser  
 130 135 140

Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser  
 145 150 155 160

Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser  
 165 170 175

Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala  
 180 185 190

Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp  
 195 200 205

Leu Ser Pro Gly Cys  
 210

<210> 148  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (25)..(25)  
 <223> Lys(mPEG40K)

10 <400> 148

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

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

Ser Asn Thr Tyr  
 35

15 <210> 149  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

<400> 149  
 Gly Gly Gly Ser  
 1

25 <210> 150  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

<400> 150  
 Gly Gly Gly Gly Ser  
 1 5

35 <210> 151  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

45 <400> 151

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



**Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys**  
 1 5 10 15

5 <210> 156  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético  
 <400> 156

**Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu**  
 1 5 10 15

**Ala Ala Ala Lys**  
 20

15 <210> 157  
 <211> 25  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético  
 <400> 157

**Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu**  
 1 5 10 15

**Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys**  
 20 25

25 <210> 158  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético  
 35 <400> 158

**Val Pro Ile Gln Lys Val**  
 1 5

40 <210> 159  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 641 869 T3

<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<400> 159

**Leu Ala Glu Ala Lys**  
**1 5**

5

<210> 160

<211> 37

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

15

<220>

<223> Extremo C NH2

<400> 160

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

**Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val**

20

25

30

**Gly Ser Asn Thr Tyr**  
**35**

20

<210> 161

<211> 36

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

30

<400> 161

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

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

**Ser Asn Thr Tyr**  
**35**

35

<210> 162

<211> 37

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

5 <400> 162

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
35

<210> 163

10 <211> 37

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

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

<400> 163

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
35

20

<210> 164

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 164

30

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

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

Ser Asn Thr Tyr  
35



ES 2 641 869 T3

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

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

Ser Asn Thr Tyr  
 35

<210> 168

<211> 37

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 168

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

<210> 169

<211> 37

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 169

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

<210> 170

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 170

5

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

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

Ser Asn Thr Tyr  
35

<210> 171

<211> 37

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

15

<400> 171

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
35

20

<210> 172

<211> 37

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 172

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
35

30



ES 2 641 869 T3

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
35

5 <210> 176  
<211> 37  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
<400> 176

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
35

15 <210> 177  
<211> 36  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
<400> 177

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

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

Ser Asn Thr Tyr

25 35

<210> 178  
<211> 37  
<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

5

<400> 178

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
35

10

<210> 179

<211> 37

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 179

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
35

20

<210> 180

<211> 36

<212> PRT

25

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

30

<400> 180

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

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

Ser Asn Thr Tyr  
35

<210> 181  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

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

<400> 181

10

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

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

**Gly Ser Asn Thr Tyr**  
 35

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

15

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

20

<400> 182

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

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

**Gly Ser Asn Thr Tyr**  
 35

<210> 183  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25

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

30

<400> 183

ES 2 641 869 T3

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

5 <210> 184  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
 <400> 184

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

15 <210> 185  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
 <400> 185

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

25 <210> 186  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 186

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

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

Ser Asn Thr Tyr  
35

5

<210> 187

<211> 37

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

15

<400> 187

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
35

20

<210> 188

<211> 37

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

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

<400> 188

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
35

30

<210> 189

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

5 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
 <400> 189

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

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

**Gly Ser Asn Thr Tyr**  
 35

10  
 <210> 190  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 15 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
 20 <400> 190

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

**Val His Ser Ser His Asn Leu Gly Ala Ala Leu Leu Pro Thr Asp Val**  
 20 25 30

**Gly Ser Asn Thr Tyr**  
 35

25 <210> 191  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 30 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
 <400> 191

ES 2 641 869 T3

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

Val His Ser Ser His Asn Leu Gly Ala Ala Leu Ser Pro Thr Asp Val  
 20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

5 <210> 192  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
 <400> 192

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

His Ser Ser His Asn Leu Gly Ala Ala Leu Pro Ser Thr Asp Val Gly  
 20 25 30

Ser Asn Thr Tyr  
 35

15 <210> 193  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
 <400> 193

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

Val Arg Ser Ser His Asn Leu Gly Ala Ala Leu Ser Pro Thr Asp Val  
 20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

25 <210> 194  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 30 <213> Secuencia artificial

ES 2 641 869 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 194

5

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
35

<210> 195

<211> 37

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

15

<400> 195

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

Val Arg Ser Ser His Asn Leu Gly Pro Ala Leu Pro Pro Thr Asp Val  
20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr  
35

20

<210> 196

<211> 37

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>

<223> Extremo N mPEG40KD

30

<220>

<223> Extremo C NH2

<400> 196

35

ES 2 641 869 T3

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

5 <210> 197  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

<220>  
 <223> Extremo N mPEG40KD

15 <220>  
 <223> Extremo C NH2

<400> 197

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

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

Ser Asn Thr Tyr  
 35

20 <210> 198  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (21)..(21)  
 <223> Lys(mPEG40KD)

35 <220>  
 <223> Extremo C NH2

<400> 198

ES 2 641 869 T3

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

5 <210> 199  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Lys(mPEG40KD)

<220>  
 <223> Extremo C NH2

20 <400> 199

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

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

Ser Asn Thr Tyr  
 35

25 <210> 200  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (26)..(26)  
 <223> Lys(mPEG40KD)

<220>  
 <223> Extremo C NH2

<400> 200

ES 2 641 869 T3

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

**Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Lys Leu Pro Pro Thr Asn Val**  
**20 25 30**

**Gly Ser Asn Thr Tyr**  
**35**

5  
 <210> 201  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (25)..(25)  
 <223> Lys(mPEG40KD)

20  
 <220>  
 <223> Extremo C NH2

<400> 201

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

**Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Lys Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly**  
**20 25 30**

**Ser Asn Thr Tyr**  
**35**

25  
 <210> 202  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

35  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (31)..(31)  
 <223> Lys(mPEG40KD)

40  
 <220>  
 <223> Extremo C NH2

<400> 202

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

**Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Lys Val**  
 20 25 30

**Gly Ser Asn Thr Tyr**  
 35

5  
 <210> 203  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (30)..(30)  
 <223> Lys(mPEG40KD)

<220>  
 <223> Extremo C NH2

20  
 <400> 203

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

**Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Lys Val Gly**  
 20 25 30

**Ser Asn Thr Tyr**  
 35

25  
 <210> 204  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

35  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (26)..(26)  
 <223> Lys(Forma Y-mPEG40KD)

<220>  
 <223> Extremo C NH2

40  
 <400> 204

ES 2 641 869 T3

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

5  
 <210> 205  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Lys(mPEG40KD)

20  
 <220>  
 <223> Extremo C NH2

<400> 205

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

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

Ser Asn Thr Tyr  
 35

25  
 <210> 206  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

35  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (25)..(25)  
 <223> Lys(mPEG40KD)

40  
 <220>  
 <223> Extremo C NH2

<400> 206

ES 2 641 869 T3

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

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

**Ser Asn Thr Tyr**  
35

5 <210> 207  
<211> 36  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

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

15 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (30)..(30)  
<223> Lys(mPEG40KD)

<220>  
<223> Extremo C NH2

20 <400> 207

**Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val**

1 5 10 15

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

**Ser Asn Thr Tyr**  
35

25 <210> 208  
<211> 36  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

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

35 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (25)..(25)  
<223> Lys(Forma Y-mPEG40KD)

<220>  
<223> Extremo C NH2

<400> 208

ES 2 641 869 T3

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

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

**Ser Asn Thr Tyr**  
**35**

5 <210> 209  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (23)..(23)  
 <223> Lys(mPEG40KD)

<220>  
 <223> Extremo C NH2

20 <400> 209

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

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

**Ser Asn Thr Tyr**  
**35**

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

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

35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Lys(mPEG40KD)

<220>  
 <223> Extremo C NH2

40 <400> 210

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

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

**Ser Asn Thr Tyr**  
**35**

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

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

15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (26)..(26)  
 <223> Lys(mPEG40KD)

20  
 <220>  
 <223> Extremo C NH2

<400> 211

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

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

**Ser Asn Thr Tyr**  
**35**

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

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

35  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Lys(mPEG40KD)

40  
 <220>  
 <223> Extremo C NH2

<400> 212

ES 2 641 869 T3

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

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

**Ser Asn Thr Tyr**  
**35**

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

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

15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (28)..(28)  
 <223> Lys(mPEG40KD)

20  
 <220>  
 <223> Extremo C NH2

20  
 <400> 213

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

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

**Ser Asn Thr Tyr**  
**35**

25  
 <210> 214  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

35  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (25)..(25)  
 <223> Lys(mPEG40K)

35  
 <400> 214

ES 2 641 869 T3

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

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

**Ser Asn Thr Tyr**  
**35**

5 <210> 215  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético  
<400> 215

Thr Gly Gly Gly Gly Ser  
15 1 5

15 <210> 216  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético  
<400> 216

25 Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
1 5 10

30 <210> 217  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

35 <220>  
<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético  
<400> 217

Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
1 5 10

40 <210> 218  
<211> 18  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

45 <220>  
<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<400> 218

**Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly**  
**1 5 10 15**

**Gly Ser**

5

<210> 219

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<400> 219

15

**Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly**  
**1 5 10 15**

**Gly Ser Gly Gly Gly Ser**  
**20**

<210> 220

<211> 6

20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

25

<400> 220

**Gly Gly Gly Ser Ala Ser**  
**1 5**

30

<210> 221

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<400> 221

**Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ser**  
**1 5 10**

40

<210> 222

<211> 14

<212> PRT

45

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<400> 222

5

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ser  
 1 5 10

<210> 223

<211> 18

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

15

<400> 223

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

Ala Ser

20

<210> 224

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<400> 224

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

Gly Gly Gly Ser Ala Ser

30

20

<210> 225

<211> 8

<212> PRT

35

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

40

<400> 225

Thr Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ser  
 1 5

<210> 226

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

5 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético  
 <400> 226

**Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ser**  
 1 5 10

10 <210> 227  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

20 <400> 227

**Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ser**  
 1 5 10 15

25 <210> 228  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

30 <400> 228

**Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly**  
 1 5 10 15

**Gly Ser Ala Ser**  
 20

35 <210> 229  
 <211> 24  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

40 <400> 229

**Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly**  
 1 5 10 15

**Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ser**  
 20

<210> 230  
5 <400> 230  
000  
<210> 231  
10 <400> 231  
000  
<210> 232  
15 <400> 232  
000  
<210> 233  
20 <400> 233  
000  
<210> 234  
25 <400> 234  
000  
<210> 235  
30 <400> 235  
000  
<210> 236  
35 <400> 236  
000  
<210> 237  
40 <400> 237  
000  
<210> 238  
45 <400> 238  
000  
<210> 239  
50 <400> 239  
000  
<210> 240  
55 <400> 240  
000  
<210> 241  
<400> 241

# ES 2 641 869 T3

000  
<210> 242  
5 <400> 242  
000  
<210> 243  
10 <400> 243  
000  
<210> 244  
15 <400> 244  
000  
<210> 245  
20 <400> 245  
000  
<210> 246  
25 <400> 246  
000  
<210> 247  
30 <400> 247  
000  
<210> 248  
35 <400> 248  
000  
<210> 249  
40 <400> 249  
000  
<210> 250  
45 <400> 250  
000  
<210> 251  
50 <400> 251  
000  
<210> 252  
55 <400> 252  
000  
<210> 253

	<400> 253 000
5	<210> 254  <400> 254 000
10	<210> 255  <400> 255 000
15	<210> 256  <400> 256 000
20	<210> 257  <400> 257 000
25	<210> 258  <400> 258 000
30	<210> 259  <400> 259 000
35	<210> 260  <400> 260 000
40	<210> 261  <400> 261 000
45	<210> 262  <400> 262 000
50	<210> 263  <400> 263 000
55	<210> 264  <400> 264 000
	<210> 265

# ES 2 641 869 T3

	<400> 265 000
5	<210> 266
	<400> 266 000
10	<210> 267
	<400> 267 000
15	<210> 268
	<400> 268 000
20	<210> 269
	<400> 269 000
25	<210> 270
	<400> 270 000
30	<210> 271
	<400> 271 000
35	<210> 272
	<400> 272 000
40	<210> 273
	<400> 273 000
45	<210> 274
	<400> 274 000
50	<210> 275
	<400> 275 000
55	<210> 276
	<400> 276 000

<210> 277  
<400> 277  
000  
5  
<210> 278  
<400> 278  
000  
10  
<210> 279  
<400> 279  
000  
15  
<210> 280  
<400> 280  
000  
20  
<210> 281  
<400> 281  
000  
25  
<210> 282  
<400> 282  
000  
30  
<210> 283  
<400> 283  
000  
35  
<210> 284  
<400> 284  
000  
40  
<210> 285  
<400> 285  
000  
45  
<210> 286  
<400> 286  
000  
50  
<210> 287  
<400> 287  
000  
55  
<210> 288  
<400> 288  
000

	<210> 289
5	<400> 289 000
	<210> 290
10	<400> 290 000
	<210> 291
15	<400> 291 000
	<210> 292
20	<400> 292 000
	<210> 293
25	<400> 293 000
	<210> 294
30	<400> 294 000
	<210> 295
35	<400> 295 000
	<210> 296
40	<400> 296 000
	<210> 297
45	<400> 297 000
	<210> 298
50	<400> 298 000
	<210> 299
55	<400> 299 000
	<210> 300
	<400> 300

# ES 2 641 869 T3

000  
<210> 301  
5 <400> 301  
000  
<210> 302  
10 <400> 302  
000  
<210> 303  
15 <400> 303  
000  
<210> 304  
20 <400> 304  
000  
<210> 305  
25 <400> 305  
000  
<210> 306  
30 <400> 306  
000  
<210> 307  
35 <400> 307  
000  
<210> 308  
40 <400> 308  
000  
<210> 309  
45 <400> 309  
000  
<210> 310  
50 <400> 310  
000  
<210> 311  
55 <400> 311  
000  
<210> 312

<400> 312  
000

5 <210> 313

<400> 313  
000

10 <210> 314

<400> 314  
000

15 <210> 315

<400> 315  
000

20 <210> 316

<400> 316  
000

25 <210> 317

<400> 317  
000

30 <210> 318

<400> 318  
000

35 <210> 319

<400> 319  
000

40 <210> 320

<400> 320  
000

45 <210> 321

<400> 321  
000

50 <210> 322

<400> 322  
000

55 <210> 323

<400> 323  
000

<210> 324

	<400> 324 000
5	<210> 325
	<400> 325 000
10	<210> 326
	<400> 326 000
15	<210> 327
	<400> 327 000
20	<210> 328
	<400> 328 000
25	<210> 329
	<400> 329 000
30	<210> 330
	<400> 330 000
35	<210> 331
	<400> 331 000
40	<210> 332
	<400> 332 000
45	<210> 333
	<400> 333 000
50	<210> 334
	<400> 334 000
55	<210> 335
	<400> 335 000

<210> 336  
<400> 336  
000  
5  
<210> 337  
<400> 337  
000  
10  
<210> 338  
<400> 338  
000  
15  
<210> 339  
<400> 339  
000  
20  
<210> 340  
<400> 340  
000  
25  
<210> 341  
<400> 341  
000  
30  
<210> 342  
<400> 342  
000  
35  
<210> 343  
<400> 343  
000  
40  
<210> 344  
<400> 344  
000  
45  
<210> 345  
<400> 345  
000  
50  
<210> 346  
<400> 346  
000  
55  
<210> 347  
<400> 347  
000

	<210> 348
5	<400> 348 000
	<210> 349
10	<400> 349 000
	<210> 350
15	<400> 350 000
	<210> 351
20	<400> 351 000
	<210> 352
25	<400> 352 000
	<210> 353
30	<400> 353 000
	<210> 354
35	<400> 354 000
	<210> 355
40	<400> 355 000
	<210> 356
45	<400> 356 000
	<210> 357
50	<400> 357 000
	<210> 358
55	<400> 358 000
	<210> 359
	<400> 359

ES 2 641 869 T3

000  
<210> 360  
5 <400> 360  
000  
<210> 361  
10 <400> 361  
000  
<210> 362  
15 <400> 362  
000  
<210> 363  
20 <400> 363  
000  
<210> 364  
25 <400> 364  
000  
<210> 365  
30 <400> 365  
000  
<210> 366  
35 <400> 366  
000  
<210> 367  
40 <400> 367  
000  
<210> 368  
45 <400> 368  
000  
<210> 369  
50 <400> 369  
000  
<210> 370  
55 <400> 370  
000  
<210> 371

	<400> 371 000
5	<210> 372  <400> 372 000
10	<210> 373  <400> 373 000
15	<210> 374  <400> 374 000
20	<210> 375  <400> 375 000
25	<210> 376  <400> 376 000
30	<210> 377  <400> 377 000
35	<210> 378  <400> 378 000
40	<210> 379  <400> 379 000
45	<210> 380  <400> 380 000
50	<210> 381  <400> 381 000
55	<210> 382  <400> 382 000
	<210> 383

ES 2 641 869 T3

	<400> 383 000
5	<210> 384
	<400> 384 000
10	<210> 385
	<400> 385 000
15	<210> 386
	<400> 386 000
20	<210> 387
	<400> 387 000
25	<210> 388
	<400> 388 000
30	<210> 389
	<400> 389 000
35	<210> 390
	<400> 390 000
40	<210> 391
	<400> 391 000
45	<210> 392
	<400> 392 000
50	<210> 393
	<400> 393 000
55	<210> 394
	<400> 394 000

<210> 395  
<400> 395  
000  
5  
<210> 396  
<400> 396  
000  
10  
<210> 397  
<400> 397  
000  
15  
<210> 398  
<400> 398  
000  
20  
<210> 399  
<400> 399  
000  
25  
<210> 400  
<400> 400  
000  
30  
<210> 401  
<400> 401  
000  
35  
<210> 402  
<400> 402  
000  
40  
<210> 403  
<400> 403  
000  
45  
<210> 404  
<400> 404  
000  
50  
<210> 405  
<400> 405  
000  
55  
<210> 406  
<400> 406  
000

	<210> 407
5	<400> 407 000
	<210> 408
10	<400> 408 000
	<210> 409
15	<400> 409 000
	<210> 410
20	<400> 410 000
	<210> 411
25	<400> 411 000
	<210> 412
30	<400> 412 000
	<210> 413
35	<400> 413 000
	<210> 414
40	<400> 414 000
	<210> 415
45	<400> 415 000
	<210> 416
50	<400> 416 000
	<210> 417
55	<400> 417 000
	<210> 418
	<400> 418

# ES 2 641 869 T3

000  
<210> 419  
5 <400> 419  
000  
<210> 420  
10 <400> 420  
000  
<210> 421  
15 <400> 421  
000  
<210> 422  
20 <400> 422  
000  
<210> 423  
25 <400> 423  
000  
<210> 424  
30 <400> 424  
000  
<210> 425  
35 <400> 425  
000  
<210> 426  
40 <400> 426  
000  
<210> 427  
45 <400> 427  
000  
<210> 428  
50 <400> 428  
000  
<210> 429  
55 <400> 429  
000  
<210> 430

<400> 430  
000

5 <210> 431

<400> 431  
000

10 <210> 432

<400> 432  
000

15 <210> 433

<400> 433  
000

20 <210> 434

<400> 434  
000

25 <210> 435

<400> 435  
000

30 <210> 436

<400> 436  
000

35 <210> 437

<400> 437  
000

40 <210> 438

<400> 438  
000

45 <210> 439

<400> 439  
000

50 <210> 440

<400> 440  
000

55 <210> 441

<400> 441  
000

<210> 442

ES 2 641 869 T3

	<400> 442 000
5	<210> 443
	<400> 443 000
10	<210> 444
	<400> 444 000
15	<210> 445
	<400> 445 000
20	<210> 446
	<400> 446 000
25	<210> 447
	<400> 447 000
30	<210> 448
	<400> 448 000
35	<210> 449
	<400> 449 000
40	<210> 450
	<400> 450 000
45	<210> 451
	<400> 451 000
50	<210> 452
	<400> 452 000
55	<210> 453
	<400> 453 000

<210> 454  
<400> 454  
000  
5  
<210> 455  
<400> 455  
000  
10  
<210> 456  
<400> 456  
000  
15  
<210> 457  
<400> 457  
000  
20  
<210> 458  
<400> 458  
000  
25  
<210> 459  
<400> 459  
000  
30  
<210> 460  
<400> 460  
000  
35  
<210> 461  
<400> 461  
000  
40  
<210> 462  
<400> 462  
000  
45  
<210> 463  
<400> 463  
000  
50  
<210> 464  
<400> 464  
000  
55  
<210> 465  
<400> 465  
000

<210> 466  
5 <400> 466  
000  
<210> 467  
10 <400> 467  
000  
<210> 468  
15 <400> 468  
000  
<210> 469  
20 <400> 469  
000  
<210> 470  
25 <400> 470  
000  
<210> 471  
30 <400> 471  
000  
<210> 472  
35 <400> 472  
000  
<210> 473  
40 <400> 473  
000  
<210> 474  
45 <400> 474  
000  
<210> 475  
50 <400> 475  
000  
<210> 476  
55 <400> 476  
000  
<210> 477  
<400> 477

ES 2 641 869 T3

000  
<210> 478  
5 <400> 478  
000  
<210> 479  
10 <400> 479  
000  
<210> 480  
15 <400> 480  
000  
<210> 481  
20 <400> 481  
000  
<210> 482  
25 <400> 482  
000  
<210> 483  
30 <400> 483  
000  
<210> 484  
35 <400> 484  
000  
<210> 485  
40 <400> 485  
000  
<210> 486  
45 <400> 486  
000  
<210> 487  
50 <400> 487  
000  
<210> 488  
55 <400> 488  
000  
<210> 489

	<400> 489 000
5	<210> 490  <400> 490 000
10	<210> 491  <400> 491 000
15	<210> 492  <400> 492 000
20	<210> 493  <400> 493 000
25	<210> 494  <400> 494 000
30	<210> 495  <400> 495 000
35	<210> 496  <400> 496 000
40	<210> 497  <400> 497 000
45	<210> 498  <400> 498 000
50	<210> 499  <400> 499 000
55	<210> 500  <400> 500 000
	<210> 501

ES 2 641 869 T3

	<400> 501 000
5	<210> 502
	<400> 502 000
10	<210> 503
	<400> 503 000
15	<210> 504
	<400> 504 000
20	<210> 505
	<400> 505 000
25	<210> 506
	<400> 506 000
30	<210> 507
	<400> 507 000
35	<210> 508
	<400> 508 000
40	<210> 509
	<400> 509 000
45	<210> 510
	<400> 510 000
50	<210> 511
	<400> 511 000
55	<210> 512
	<400> 512 000

<210> 513  
<400> 513  
000  
5  
<210> 514  
<400> 514  
000  
10  
<210> 515  
<400> 515  
000  
15  
<210> 516  
<400> 516  
000  
20  
<210> 517  
<400> 517  
000  
25  
<210> 518  
<400> 518  
000  
30  
<210> 519  
<400> 519  
000  
35  
<210> 520  
<400> 520  
000  
40  
<210> 521  
<400> 521  
000  
45  
<210> 522  
<400> 522  
000  
50  
<210> 523  
<400> 523  
000  
55  
<210> 524  
<400> 524  
000

	<210> 525
5	<400> 525 000
	<210> 526
10	<400> 526 000
	<210> 527
15	<400> 527 000
	<210> 528
20	<400> 528 000
	<210> 529
25	<400> 529 000
	<210> 530
30	<400> 530 000
	<210> 531
35	<400> 531 000
	<210> 532
40	<400> 532 000
	<210> 533
45	<400> 533 000
	<210> 534
50	<400> 534 000
	<210> 535
55	<400> 535 000
	<210> 536
	<400> 536

ES 2 641 869 T3

000  
<210> 537  
5 <400> 537  
000  
<210> 538  
10 <400> 538  
000  
<210> 539  
15 <400> 539  
000  
<210> 540  
20 <400> 540  
000  
<210> 541  
25 <400> 541  
000  
<210> 542  
30 <400> 542  
000  
<210> 543  
35 <400> 543  
000  
<210> 544  
40 <400> 544  
000  
<210> 545  
45 <400> 545  
000  
<210> 546  
50 <400> 546  
000  
<210> 547  
55 <400> 547  
000  
<210> 548

ES 2 641 869 T3

	<400> 548 000
5	<210> 549  <400> 549 000
10	<210> 550  <400> 550 000
15	<210> 551  <400> 551 000
20	<210> 552  <400> 552 000
25	<210> 553  <400> 553 000
30	<210> 554  <400> 554 000
35	<210> 555  <400> 555 000
40	<210> 556  <400> 556 000
45	<210> 557  <400> 557 000
50	<210> 558  <400> 558 000
55	<210> 559  <400> 559 000
	<210> 560

ES 2 641 869 T3

<400> 560  
000

5 <210> 561

<400> 561  
000

10 <210> 562

<400> 562  
000

15 <210> 563

<400> 563  
000

20 <210> 564

<400> 564  
000

25 <210> 565

<400> 565  
000

30 <210> 566

<400> 566  
000

35 <210> 567

<400> 567  
000

40 <210> 568

<400> 568  
000

45 <210> 569

<400> 569  
000

50 <210> 570

<400> 570  
000

55 <210> 571

<400> 571  
000

<210> 572  
<400> 572  
000  
5  
<210> 573  
<400> 573  
000  
10  
<210> 574  
<400> 574  
000  
15  
<210> 575  
<400> 575  
000  
20  
<210> 576  
<400> 576  
000  
25  
<210> 577  
<400> 577  
000  
30  
<210> 578  
<400> 578  
000  
35  
<210> 579  
<400> 579  
000  
40  
<210> 580  
<400> 580  
000  
45  
<210> 581  
<400> 581  
000  
50  
<210> 582  
<400> 582  
000  
55  
<210> 583  
<400> 583  
000

ES 2 641 869 T3

	<210> 584
5	<400> 584 000
	<210> 585
10	<400> 585 000
	<210> 586
15	<400> 586 000
	<210> 587
20	<400> 587 000
	<210> 588
25	<400> 588 000
	<210> 589
30	<400> 589 000
	<210> 590
35	<400> 590 000
	<210> 591
40	<400> 591 000
	<210> 592
45	<400> 592 000
	<210> 593
50	<400> 593 000
	<210> 594
55	<400> 594 000
	<210> 595
	<400> 595

ES 2 641 869 T3

000  
<210> 596  
5 <400> 596  
000  
<210> 597  
10 <400> 597  
000  
<210> 598  
15 <400> 598  
000  
<210> 599  
20 <400> 599  
000  
<210> 600  
25 <400> 600  
000  
<210> 601  
30 <400> 601  
000  
<210> 602  
35 <400> 602  
000  
<210> 603  
40 <400> 603  
000  
<210> 604  
45 <400> 604  
000  
<210> 605  
50 <400> 605  
000  
<210> 606  
55 <400> 606  
000  
<210> 607

<400> 607  
000

5 <210> 608

<400> 608  
000

10 <210> 609

<400> 609  
000

15 <210> 610

<400> 610  
000

20 <210> 611

<400> 611  
000

25 <210> 612

<400> 612  
000

30 <210> 613

<400> 613  
000

35 <210> 614

<400> 614  
000

40 <210> 615

<400> 615  
000

45 <210> 616

<400> 616  
000

50 <210> 617

<400> 617  
000

55 <210> 618

<400> 618  
000

<210> 619

# ES 2 641 869 T3

	<400> 619 000
5	<210> 620
	<400> 620 000
10	<210> 621
	<400> 621 000
15	<210> 622
	<400> 622 000
20	<210> 623
	<400> 623 000
25	<210> 624
	<400> 624 000
30	<210> 625
	<400> 625 000
35	<210> 626
	<400> 626 000
40	<210> 627
	<400> 627 000
45	<210> 628
	<400> 628 000
50	<210> 629
	<400> 629 000
55	<210> 630
	<400> 630 000

<210> 631  
<400> 631  
000  
5  
<210> 632  
<400> 632  
000  
10  
<210> 633  
<400> 633  
000  
15  
<210> 634  
<400> 634  
000  
20  
<210> 635  
<400> 635  
000  
25  
<210> 636  
<400> 636  
000  
30  
<210> 637  
<400> 637  
000  
35  
<210> 638  
<400> 638  
000  
40  
<210> 639  
<400> 639  
000  
45  
<210> 640  
<400> 640  
000  
50  
<210> 641  
<400> 641  
000  
55  
<210> 642  
<400> 642  
000

# ES 2 641 869 T3

	<210> 643
5	<400> 643 000
	<210> 644
10	<400> 644 000
	<210> 645
15	<400> 645 000
	<210> 646
20	<400> 646 000
	<210> 647
25	<400> 647 000
	<210> 648
30	<400> 648 000
	<210> 649
35	<400> 649 000
	<210> 650
40	<400> 650 000
	<210> 651
45	<400> 651 000
	<210> 652
50	<400> 652 000
	<210> 653
55	<400> 653 000
	<210> 654
	<400> 654

ES 2 641 869 T3

000  
<210> 655  
5 <400> 655  
000  
<210> 656  
10 <400> 656  
000  
<210> 657  
15 <400> 657  
000  
<210> 658  
20 <400> 658  
000  
<210> 659  
25 <400> 659  
000  
<210> 660  
30 <400> 660  
000  
<210> 661  
35 <400> 661  
000  
<210> 662  
40 <400> 662  
000  
<210> 663  
45 <400> 663  
000  
<210> 664  
<211> 147  
50 <212> PRT  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
55 <400> 664

ES 2 641 869 T3

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

Pro Glu Cys  
145

<210> 665

<211> 147

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

10

<400> 665

ES 2 641 869 T3

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

Pro Glu Cys  
 145

<210> 666

<211> 147

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

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

<400> 666



ES 2 641 869 T3

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

Pro Glu Cys  
145

<210> 668

<211> 147

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 668

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

5

10

ES 2 641 869 T3

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

Pro Glu Cys  
 145

<210> 669  
 <211> 147  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

<400> 669

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
 20 25 30

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

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

ES 2 641 869 T3

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

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

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

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

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

Pro Glu Cys  
145

<210> 670

<211> 147

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

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

<400> 670

ES 2 641 869 T3

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

Pro Glu Cys  
145

<210> 671

<211> 147

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

10

<400> 671



ES 2 641 869 T3

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

Pro Glu Cys  
145

<210> 673

<211> 147

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 673

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

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

5

10

ES 2 641 869 T3

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

<210> 674

<211> 147

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

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

<400> 674

ES 2 641 869 T3

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

Pro Glu Cys  
 145

<210> 675

<211> 147

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

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

<400> 675

ES 2 641 869 T3

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

Pro Glu Cys  
 145

<210> 676  
 <211> 147  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

<400> 676



ES 2 641 869 T3

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

Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser  
20 25 30

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

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

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

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

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

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

Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser  
130 135 140

Pro Glu Cys  
145

<210> 678

5 <400> 678  
000

<210> 679

10 <400> 679  
000

<210> 680

15 <400> 680  
000

<210> 681

20 <400> 681  
000

<210> 682

ES 2 641 869 T3

	<400> 682 000
5	<210> 683
	<400> 683 000
10	<210> 684
	<400> 684 000
15	<210> 685
	<400> 685 000
20	<210> 686
	<400> 686 000
25	<210> 687
	<400> 687 000
30	<210> 688
	<400> 688 000
35	<210> 689
	<400> 689 000
40	<210> 690
	<400> 690 000
45	<210> 691
	<400> 691 000
50	<210> 692
	<400> 692 000
55	<210> 693
	<400> 693 000

<210> 694  
<400> 694  
000  
5  
<210> 695  
<400> 695  
000  
10  
<210> 696  
<400> 696  
000  
15  
<210> 697  
<400> 697  
000  
20  
<210> 698  
<400> 698  
000  
25  
<210> 699  
<400> 699  
000  
30  
<210> 700  
<400> 700  
000  
35  
<210> 701  
<400> 701  
000  
40  
<210> 702  
<400> 702  
000  
45  
<210> 703  
<400> 703  
000  
50  
<210> 704  
<400> 704  
000  
55  
<210> 705  
<400> 705  
000

<210> 706  
5 <400> 706  
000  
<210> 707  
10 <400> 707  
000  
<210> 708  
15 <400> 708  
000  
<210> 709  
20 <400> 709  
000  
<210> 710  
25 <400> 710  
000  
<210> 711  
30 <400> 711  
000  
<210> 712  
35 <400> 712  
000  
<210> 713  
40 <400> 713  
000  
<210> 714  
45 <400> 714  
000  
<210> 715  
50 <400> 715  
000  
<210> 716  
55 <400> 716  
000  
<210> 717  
<400> 717

ES 2 641 869 T3

000  
<210> 718  
5 <400> 718  
000  
<210> 719  
10 <400> 719  
000  
<210> 720  
15 <400> 720  
000  
<210> 721  
20 <400> 721  
000  
<210> 722  
25 <400> 722  
000  
<210> 723  
30 <400> 723  
000  
<210> 724  
35 <400> 724  
000  
<210> 725  
40 <400> 725  
000  
<210> 726  
45 <400> 726  
000  
<210> 727  
50 <400> 727  
000  
<210> 728  
55 <400> 728  
000  
<210> 729

	<400> 729 000
5	<210> 730  <400> 730 000
10	<210> 731  <400> 731 000
15	<210> 732  <400> 732 000
20	<210> 733  <400> 733 000
25	<210> 734  <400> 734 000
30	<210> 735  <400> 735 000
35	<210> 736  <400> 736 000
40	<210> 737  <400> 737 000
45	<210> 738  <400> 738 000
50	<210> 739  <400> 739 000
55	<210> 740  <400> 740 000
	<210> 741

ES 2 641 869 T3

	<400> 741 000
5	<210> 742
	<400> 742 000
10	<210> 743
	<400> 743 000
15	<210> 744
	<400> 744 000
20	<210> 745
	<400> 745 000
25	<210> 746
	<400> 746 000
30	<210> 747
	<400> 747 000
35	<210> 748
	<400> 748 000
40	<210> 749
	<400> 749 000
45	<210> 750
	<400> 750 000
50	<210> 751
	<400> 751 000
55	<210> 752
	<400> 752 000

<210> 753  
<400> 753  
000  
5  
<210> 754  
<400> 754  
000  
10  
<210> 755  
<400> 755  
000  
15  
<210> 756  
<400> 756  
000  
20  
<210> 757  
<400> 757  
000  
25  
<210> 758  
<400> 758  
000  
30  
<210> 759  
<400> 759  
000  
35  
<210> 760  
<400> 760  
000  
40  
<210> 761  
<400> 761  
000  
45  
<210> 762  
<400> 762  
000  
50  
<210> 763  
<400> 763  
000  
55  
<210> 764  
<400> 764  
000

<210> 765  
5 <400> 765  
000  
<210> 766  
10 <400> 766  
000  
<210> 767  
15 <400> 767  
000  
<210> 768  
20 <400> 768  
000  
<210> 769  
25 <400> 769  
000  
<210> 770  
30 <400> 770  
000  
<210> 771  
35 <400> 771  
000  
<210> 772  
40 <400> 772  
000  
<210> 773  
45 <400> 773  
000  
<210> 774  
50 <400> 774  
000  
<210> 775  
55 <400> 775  
000  
<210> 776  
<400> 776

000  
<210> 777  
5 <400> 777  
000  
<210> 778  
10 <400> 778  
000  
<210> 779  
15 <400> 779  
000  
<210> 780  
20 <400> 780  
000  
<210> 781  
25 <400> 781  
000  
<210> 782  
30 <400> 782  
000  
<210> 783  
35 <400> 783  
000  
<210> 784  
40 <400> 784  
000  
<210> 785  
45 <400> 785  
000  
<210> 786  
50 <400> 786  
000  
<210> 787  
55 <400> 787  
000  
<210> 788

	<400> 788 000
5	<210> 789  <400> 789 000
10	<210> 790  <400> 790 000
15	<210> 791  <400> 791 000
20	<210> 792  <400> 792 000
25	<210> 793  <400> 793 000
30	<210> 794  <400> 794 000
35	<210> 795  <400> 795 000
40	<210> 796  <400> 796 000
45	<210> 797  <400> 797 000
50	<210> 798  <400> 798 000
55	<210> 799  <400> 799 000
	<210> 800

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

5

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

<220>  
 <223> Extremo N hidrógeno, grupo protector de N o un enlazador a un resto potenciador de la

10

duración  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Puede estar presente o no

15

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (21)..(21)  
 <223> Lys, Cys o Asn

20

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Lys, Cys o Gly

25

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (25)..(25)  
 <223> Lys, Cys o Pro

30

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (26)..(26)  
 <223> Lys, Cys o Ile

35

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Lys, Cys o Leu

40

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (28)..(29)  
 <223> Lys, Cys o Pro

45

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (31)..(31)  
 <223> Lys, Cys o Asn

50

<220>  
 <223> Extremo C amino sustituido o no sustituido, alquilamino sustituido o no sustituido,  
 dialquilamino sustituido o no sustituido, cicloalquilamino sustituido o no sustituido, arilamino  
 sustituido o no sustituido,

55

<220>  
 <223> cont. del anterior aralkilamido sustituido o no sustituido, alquiloxi sustituido o no sustituido,  
 ariloxi sustituido o no sustituido, aralquiloxi sustituido o no sustituido, o hidroxil

ES 2 641 869 T3

<400> 800

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

Val His Ser Ser Xaa Asn Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Val  
20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr  
35

5 <210> 801

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>

<223> Extremo C NH2

15 <400> 801

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

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

Ser Asn Thr Tyr  
35

20 <210> 802

<211> 37

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>

<223> Extremo C NH2

30 <400> 802

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

<210> 803

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>

<223> Extremo C NH2

<400> 803

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

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

Ser Asn Thr Tyr  
 35

<210> 804

<211> 37

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>

<223> Extremo C NH2

<400> 804

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

5 <210> 805  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

10 <220>  
 <223> Extremo C NH2

<400> 805

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

**Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Lys Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly**  
 20 25 30

**Ser Asn Thr Tyr**  
 35

15  
 <210> 806  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

20 <220>  
 <223> Extremo C NH2

<400> 806

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

**Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Lys Val**  
 20 25 30

**Gly Ser Asn Thr Tyr**  
 35

30  
 <210> 807  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

35 <220>  
 <223> Extremo C NH2

ES 2 641 869 T3

<400> 807

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

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

Ser Asn Thr Tyr  
35

5 <210> 808

<211> 37

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>

<223> Extremo C NH2

15 <400> 808

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

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

Gly Ser Asn Thr Tyr  
35

20 <210> 809

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>

<223> Extremo C NH2

30 <400> 809

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

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

**Ser Asn Thr Tyr**  
**35**

<210> 810

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>

<223> Extremo C NH2

<400> 810

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

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

**Ser Asn Thr Tyr**  
**35**

<210> 811

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>

<223> Extremo C NH2

<400> 811

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

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

**Ser Asn Thr Tyr**  
**35**

<210> 812

<211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

<220>  
 <223> Extremo C NH2

10 <400> 812

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

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

**Ser Asn Thr Tyr**  
**35**

15 <210> 813  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

<220>  
 <223> Extremo C NH2

25 <400> 813

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

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

**Ser Asn Thr Tyr**  
**35**

30 <210> 814  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

<220>  
 <223> Extremo C NH2

40

ES 2 641 869 T3

<400> 814

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

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

Ser Asn Thr Tyr  
35

5 <210> 815  
<211> 36  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

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

<220>  
<223> Extremo C NH2

15 <400> 815

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

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

Ser Asn Thr Tyr  
35

20 <210> 816  
<211> 36  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

25 <220>  
<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>  
<223> Extremo C NH2

30 <400> 816

ES 2 641 869 T3

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

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

Ser Asn Thr Tyr  
35

<210> 817

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético

<220>

<223> Extremo C NH2

<400> 817

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

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

Ser Asn Thr Tyr  
35

## REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética que comprende:

5 un polipéptido de un dominio de unión a albúmina (ABD) que comprende un motivo de unión a albúmina (ABM) que comprende la secuencia de aminoácidos:

GVSD X<sub>5</sub> YK X<sub>8</sub> X<sub>9</sub> I X<sub>11</sub> X<sub>12</sub> A X<sub>14</sub> TVEGV X<sub>20</sub> AL X<sub>23</sub> X<sub>24</sub> X<sub>25</sub> I (SEQ ID NO: 34), en donde:  
independientemente entre sí,

10

X<sub>5</sub> se selecciona entre Y y F;

X<sub>8</sub> se selecciona entre N, R y S;

X<sub>9</sub> se selecciona entre V, I, L, M, F e Y;

X<sub>11</sub> se selecciona entre N, S, E y D;

15

X<sub>12</sub> se selecciona entre R, K y N;

X<sub>14</sub> se selecciona entre K y R;

X<sub>20</sub> se selecciona entre D, N, Q, E, H, S, R y K;

X<sub>23</sub> se selecciona entre K, I y T;

X<sub>24</sub> se selecciona entre A, S, T, G, H, L y D; y

20

X<sub>25</sub> se selecciona entre H, E y D; y

un primer dominio de hormona polipeptídico (HD1) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada entre:

25 (a) SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, los aminoácidos 2-147 de la SEQ ID NO:31 y los aminoácidos 2-147 de la SEQ ID NO:33; o

30 (b) la secuencia de aminoácidos 1-146 de una leptina seleccionada entre: SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145, y la SEQ ID NO: 146;

en las que un aminoácido diferente está sustituido en una o más de las siguientes posiciones y retiene la misma numeración (incluso en ausencia de un resto glutaminilo en la posición 28): 4, 32, 33, 35, 50, 64, 68, 71, 74, 77, 78, 89, 97, 100, 102, 105, 106, 107, 108, 111, 118, 136, 138, 142 y 145;

40 (c) la secuencia de aminoácidos de la subparte (b) en la que el resto glutaminilo en la posición 28 está ausente;

(d) la secuencia de aminoácidos de las subpartes (b) o (c) en la que se ha añadido un resto metionilo en el extremo N;

(e) una leptina que consiste en un fragmento de la secuencia de aminoácidos de (b), (c) o (d) seleccionado entre los:

45

i) aminoácidos 98-146;

ii) aminoácidos 1-32;

iii) aminoácidos 40-116;

iv) aminoácidos 1-99 y 112-146;

50 v) aminoácidos 1-99 y 112-146 en los que uno o más de los aminoácidos 100-111 está(n) colocado(s) entre los aminoácidos 99 y 122;

vi) la secuencia de aminoácidos de la subparte (i) en la que uno o más de los aminoácidos 100, 102, 105, 106, 107, 108, 111, 118, 136, 138, 142 y 145 están sustituidos con otro aminoácido;

55 vii) la secuencia de aminoácidos de la subparte (ii) en la que uno o más de los aminoácidos 4, 8 y 32 están sustituidos con otro aminoácido;

viii) la secuencia de aminoácidos de la subparte (iii) en la que uno o más de los aminoácidos 50, 53, 60, 64, 66, 67, 68, 71, 74, 77, 78, 89, 97, 100, 102, 105, 106, 107, 108, 111 y 112 están sustituidos con otro aminoácido;

ix) la secuencia de aminoácidos de la subparte (iv) en la que uno o más de los aminoácidos 4, 8, 32, 33, 35, 48, 50, 53, 60, 64, 66, 67, 68, 71, 74, 77, 78, 89, 97, 112, 118, 136, 138, 142 y 145 están sustituidos con otro aminoácido; y

60

x) la secuencia de aminoácidos de la subparte (v) en la que uno o más de los aminoácidos 4, 32, 33, 35, 50, 64, 68, 71, 74, 77, 78, 89, 97, 100, 102, 105, 106, 107, 108, 111, 118, 136, 138, 142 y 145 están sustituidos con otro aminoácido;

xi) la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las subpartes (i) (x) en la que se ha añadido una metionina al extremo N;

65

- (f) la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las subpartes (b) a (e) en el que dicha secuencia de aminoácidos está unida a un resto químico;
- (g) la secuencia de aminoácidos de la subparte (e) en la que dicho resto químico es un resto polimérico soluble en agua;
- 5 (h) la secuencia de aminoácidos de la subparte (g) en la que dicho resto polimérico soluble en agua se selecciona entre: polietilenglicol, un copolímero de etilenglicol/propilenglicol, una carboximetilcelulosa, un dextrano, un poli(alcohol vinílico), una polivinilpirrolidona, un poli-1,3-dioxolano, un poli-1,3,6-trioxano, un copolímero de etileno/anhídrido málico, un homopolímero de poliaminoácidos, un copolímero aleatorio de poliaminoácidos, una albúmina, una proteína Fc, un poli(n-vinil pirrolidona)polietilenglicol, un homopolímero de propilenglicol, un copolímero de óxido de polipropileno/óxido de etileno, un poliol polioxietilenado, un poli(alcohol vinílico), un polietilenglicol propionaldehído, un succinato y un estireno;
- 10 (i) la secuencia de aminoácidos de la subparte (h) en la que dicho resto polimérico soluble en agua es un polietilenglicol; y
- 15 (j) la secuencia de aminoácidos de la subparte (h) en la que dicho resto polimérico soluble en agua es un poliaminoácido seleccionado entre: una albúmina, un anticuerpo, una proteína Fc y un resto polilisina;

y un primer enlazador (L1) covalentemente unido a dicho HD1, comprendiendo dicho enlazador una secuencia de aminoácidos seleccionada entre Gly-Gly-Gly, [Gly-Ser]<sub>n</sub>, [Gly-Gly-Ser]<sub>n</sub>, [Gly-Gly-Gly-Ser]<sub>n</sub> y [Gly-Gly-Gly-Gly-Ser]<sub>n</sub>, en la que n es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10.

20 2. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el HD1 tiene una secuencia seleccionada entre las secuencias de la subparte (a).

25 3. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la reivindicación 2, en el que dicho polipéptido diseñado mediante ingeniería genética comprende dicho ABD como resto del extremo N y dicho HD1 como resto del extremo C.

30 4. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la reivindicación 2, en el que dicho polipéptido diseñado mediante ingeniería genética comprende dicho ABD como resto del extremo C y dicho HD1 como resto del extremo N.

35 5. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicho HD1 tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada entre: SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, los aminoácidos 2-147 de la SEQ ID NO:31, y los aminoácidos 2-147 de la SEQ ID NO:33.

40 6. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicho HD1 tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada entre: SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 33, y los aminoácidos 2-147 de la SEQ ID NO:33.

45 7. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que, independientemente entre sí,

X<sub>5</sub> es Y;  
 X<sub>8</sub> es N;  
 X<sub>23</sub> es T o I;  
 X<sub>24</sub> es S o L; y  
 50 X<sub>25</sub> es E o H.

8. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el motivo de unión a albúmina comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre:

55 GVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTHI (SEQ ID NO:114) y  
 GVSDYYKNLINKAKTVEGVEALISEI (SEQ ID NO:115).

60 9. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que dicho ABD comprende un motivo de unión a albúmina (ABM) que no es GVSDYYKNLINAKTVEGVKALIDEI (SEQ ID NO:35).

65 10. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el polipéptido del dominio de unión a albúmina (ABD) comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de:

LAEAKEDAIKELDKYGVSDDYYKNLINKAKTVEGVEALTHILAALP (SEQ ID NO:50); y

LAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALISEILAALP (SEQ ID NO:51).

11. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en el que dicho ABD comprende la secuencia de aminoácidos:

5 LAEAK X<sub>a</sub> X<sub>b</sub> A X<sub>c</sub> X<sub>d</sub> EL X<sub>e</sub> KY -[ABM]- LAALP (SEQ ID NO:36)

en donde [ABM] es un motivo de unión a albúmina, e, independientemente entre sí,

X<sub>a</sub> se selecciona entre V y E;

10 X<sub>b</sub> se selecciona ente L, E y D;

X<sub>c</sub> se selecciona entre N, L e I;

X<sub>d</sub> se selecciona entre R y K;

X<sub>e</sub> se selecciona entre D y K;

15 la leucina en la posición 45 está presente o ausente;

y la prolina en la posición 46 está presente o ausente.

12. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho ABD comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos un 85 % con una secuencia de aminoácidos que se selecciona de las: SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, y la SEQ ID NO: 52.

13. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en el que dicho ABD comprende uno cualquiera de los péptidos seleccionados de:

25 LAEAKVLNRELDKYGVSDYKRLINKAKTVEGVNALTHHILAALP (SEQ ID NO:39),  
 LAEAKVLNRELDKYGVSDYYKNLINRARTVEGVHALIDHILAALP (SEQ ID NO:40),  
 LAEAKVLNRELDKYGVSDYYKNIINRAKTVEGVRALKLHILAALP (SEQ ID NO:41),  
 LAEAKVLNRELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTHILAALP (SEQ ID NO:43),  
 30 LAEAKVLNRELDKYGVSDYKRLINKAKTVEGVDALIAHILAALP (SEQ ID NO:44),  
 LAEAKVLNRELDKYGVSDYKSLINRAKTVEGVDALTSHILAALP (SEQ ID NO:45),  
 LAEAKVLNRELDKYGVSDYKVNINKAKTVEGVEALIADILAALP (SEQ ID NO:47),  
 LAEAKVLNRELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVQALIAHILAALP (SEQ ID NO:48),  
 LAEAKVLNRELDKYGVSDYKRLINKAKTVEGVEALKLHILAALP (SEQ ID NO:49),  
 35 LAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALTHILAALP (SEQ ID NO:50),  
 LAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKNLINKAKTVEGVEALISEILAALP (SEQ ID NO:51), y  
 LAEAKEDAIKELDKYGVSDYYKRLISKAKTVEGVKALISEILAALP (SEQ ID NO:52).

40 14. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en el que dicho ABD comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:49.

15. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que dicho enlazador L1 es un péptido de 1 a 30 aminoácidos o de menos de 30 aminoácidos.

45 16. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en el que dicho enlazador L1 comprende un dipéptido TG en el extremo N o un dipéptido AS en el extremo C, o ambas.

50 17. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en el que dicho enlazador L1 comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de: TG-(GGGS)<sub>1</sub> (SEQ ID NO: 215), TG-(GGGS)<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 216), TG (GGGS)<sub>3</sub> (SEQ ID NO: 217), TG-(GGGS)<sub>4</sub> (SEQ ID NO: 218), TG-(GGGS)<sub>5</sub> (SEQ ID NO: 219), (GGGS)<sub>1</sub>-AS (SEQ ID NO: 220), (GGGS)<sub>2</sub>-AS (SEQ ID NO: 221), (GGGS)<sub>3</sub>-AS (SEQ ID NO: 222), (GGGS)<sub>4</sub>-AS (SEQ ID NO: 223), (GGGS)<sub>5</sub>-AS (SEQ ID NO: 224), TG-(GGGS)<sub>1</sub>-AS (SEQ ID NO: 225), TG-(GGGS)<sub>2</sub>-AS (SEQ ID NO: 226), TG-(GGGS)<sub>3</sub>-AS (SEQ ID NO: 227), TG (GGGS)<sub>4</sub>-AS (SEQ ID NO: 228) y TG-(GGGS)<sub>5</sub>-AS (SEQ ID NO: 229).

60 18. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en el que dicho polipéptido diseñado mediante ingeniería genética comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre las: SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO:85, SEQ ID NO:86, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 106,

y la SEQ ID NO: 107.

5 19. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la reivindicación 18, en el que dicho polipéptido diseñado mediante ingeniería genética comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre las: SEQ ID NO:54 y SEQ ID NO:61.

20. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho HD1 tiene una secuencia seleccionada entre las secuencias de las subpartes (b)-(j).

10 21. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la reivindicación 20, en el que dicho HD1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre: SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145, y la SEQ ID NO: 146; en el que se han realizado una o más sustituciones de aminoácidos.

15

20 22. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la reivindicación 19, en el que dicho HD1 es la SEQ ID NO:143, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145 o la SEQ ID NO: 146.

23. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la reivindicación 20, en el que dicho HD1 es la SEQ ID NO:26, SEQ ID NO: 29 o la SEQ ID NO: 33, en el que se han realizado una o más sustituciones de aminoácidos.

25

24. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 20 a 23, en el que dicho ABD comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:49.

30 25. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24 para su uso en el tratamiento de una enfermedad o un trastorno en un sujeto.

35 26. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24 para su uso en el tratamiento de una enfermedad o un trastorno seleccionados entre lipodistrofia, dislipidemia, hiperlipidemia, obesidad, amenorrea hipotalámica, enfermedad de Alzheimer, deficiencia de leptina, enfermedad del hígado graso, diabetes (incluyendo tipo I y tipo II), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), enfermedad del hígado graso no alcohólica (NAFLD), síndrome metabólico X y enfermedad de Huntington.

40 27. El polipéptido diseñado mediante ingeniería genética para su uso de acuerdo con la reivindicación 26, en el que la enfermedad o el trastorno son lipodistrofia, dislipidemia, hiperlipidemia, obesidad, amenorrea hipotalámica, enfermedad de Alzheimer, deficiencia de leptina, enfermedad del hígado graso o diabetes.

28. Una composición farmacéutica que comprende un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

45 29. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 28, en donde dicha composición farmacéutica es una composición farmacéutica inyectable.

50 30. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 28 o la reivindicación 29, en donde dicha composición farmacéutica es una composición farmacéutica de liberación sostenida o duradera.

55 31. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 28 a 30, para su uso en el tratamiento de lipodistrofia, dislipidemia, hiperlipidemia, obesidad, amenorrea hipotalámica, enfermedad de Alzheimer, deficiencia de leptina, enfermedad del hígado graso, diabetes (incluyendo tipo I y tipo II), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), enfermedad del hígado graso no alcohólica (NAFLD) o síndrome metabólico X.

60 32. Una combinación de al menos dos agentes antiobesidad diferentes para su uso en el tratamiento de la obesidad en un sujeto, en la que al menos un agente antiobesidad es una amilina conjugada con polietilenglicol (PEG) y al menos un agente antiobesidad es un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24.

65 33. El uso no terapéutico de una combinación de al menos dos agentes antiobesidad diferentes para reducir el peso corporal en un sujeto, en donde al menos un agente antiobesidad es una amilina conjugada con polietilenglicol (PEG) y al menos un agente antiobesidad es un polipéptido diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24.

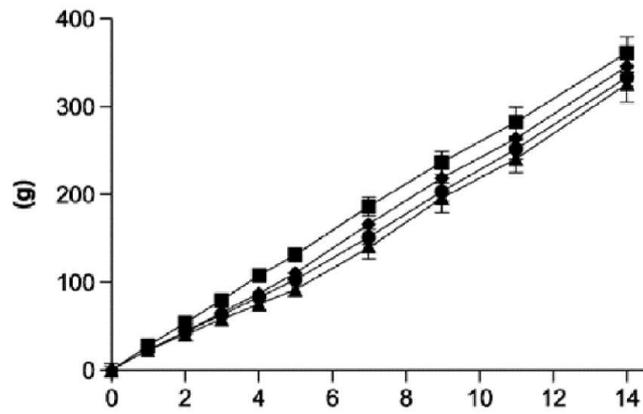


FIG. 1A

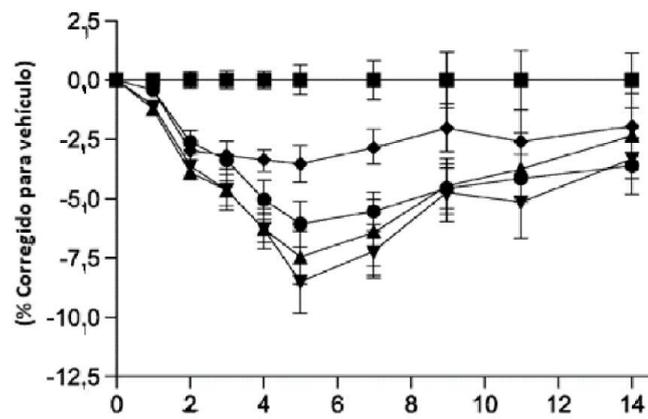


FIG. 1B

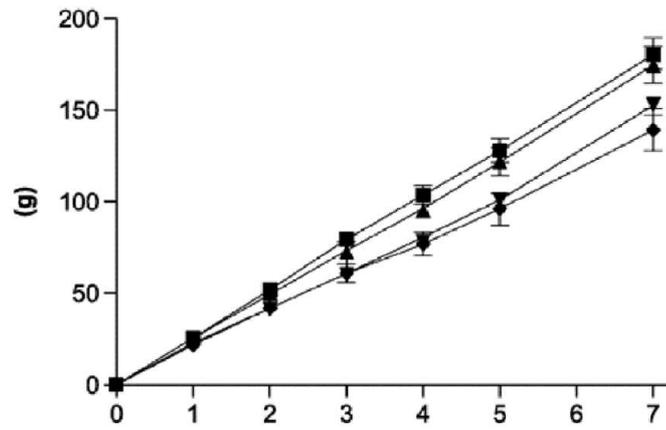


FIG. 2A

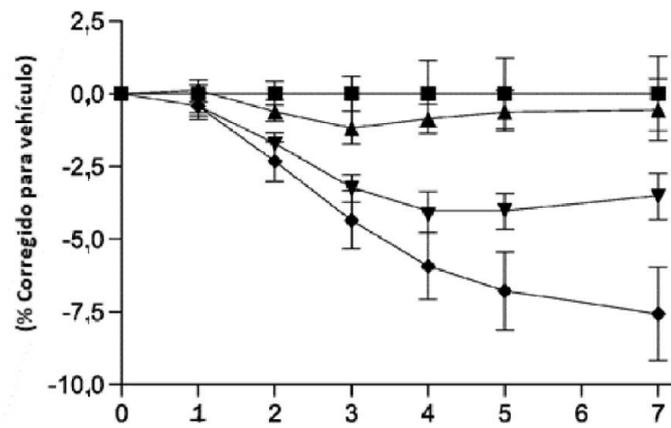


FIG. 2B

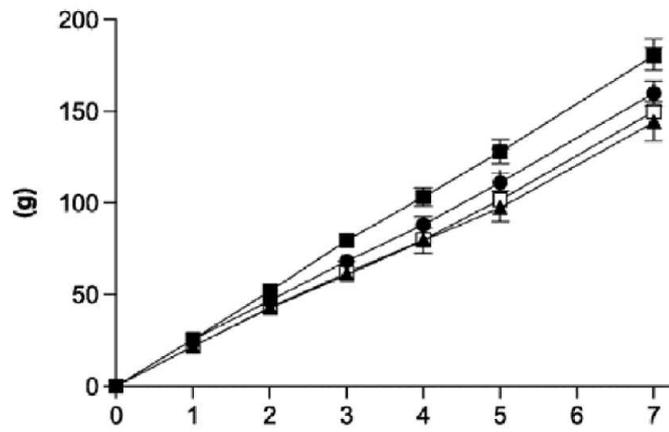


FIG. 3A

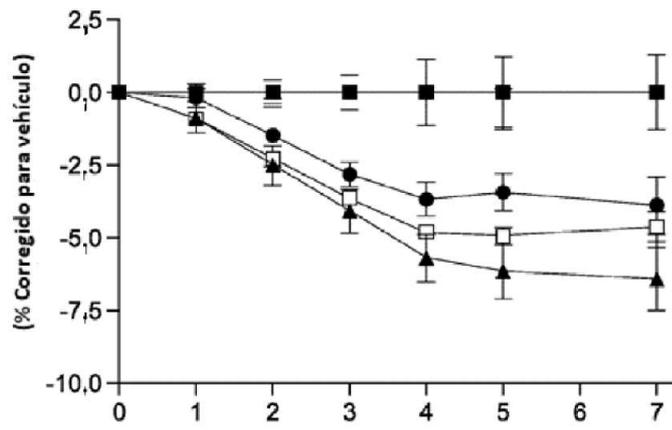


FIG. 3B

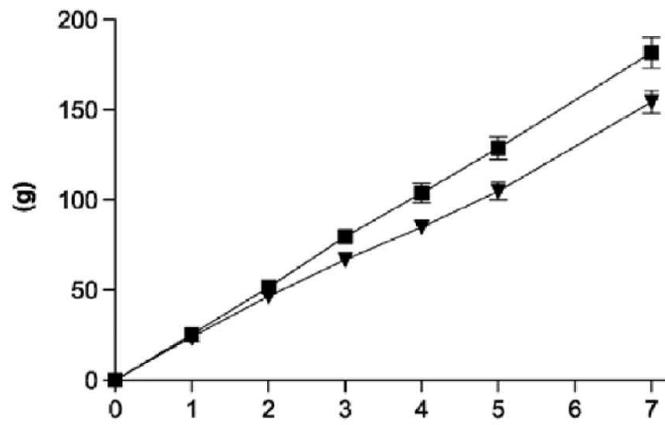


FIG. 4A

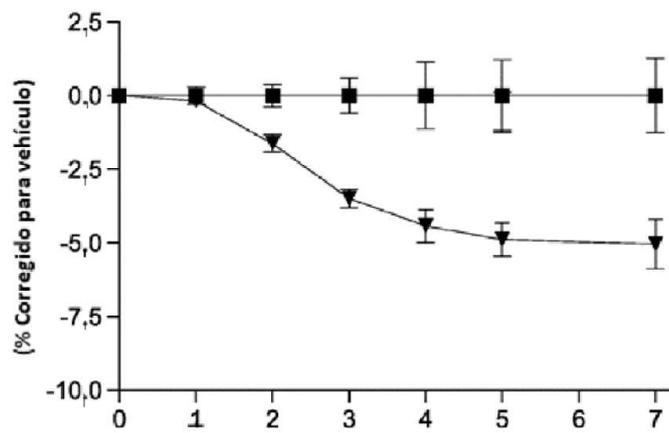


FIG. 4B

Porcentaje de cambio en el peso corporal respecto al inicio  
(corregido para vehículo)

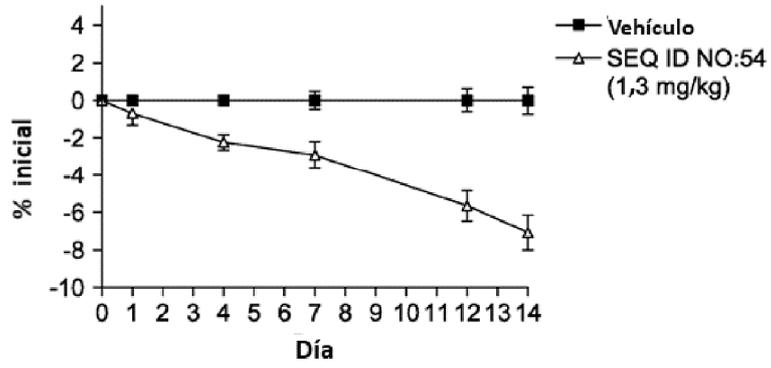
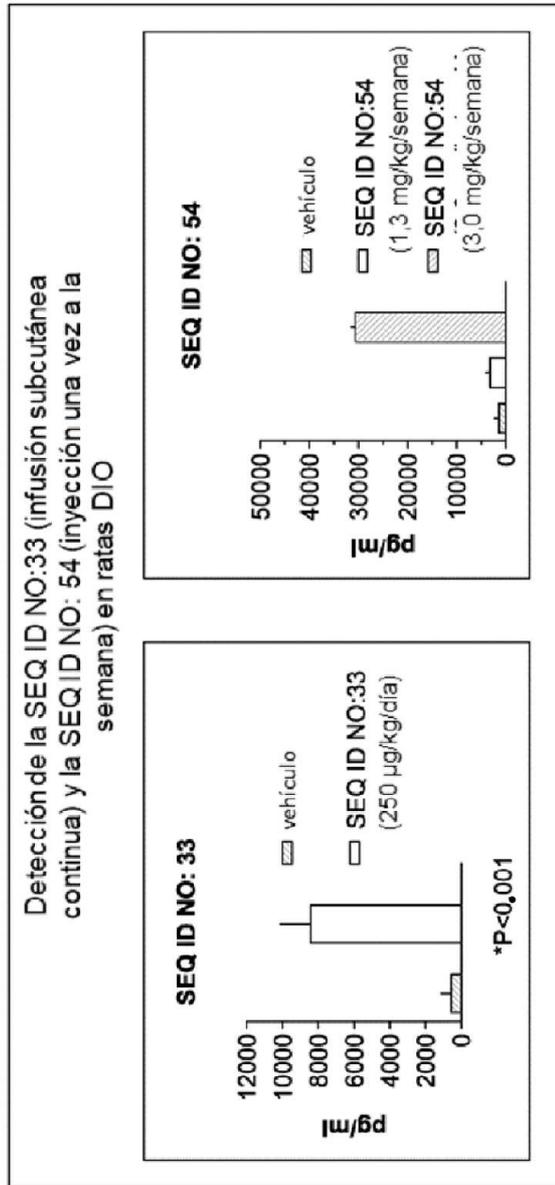


FIG. 5



**FIG. 6**

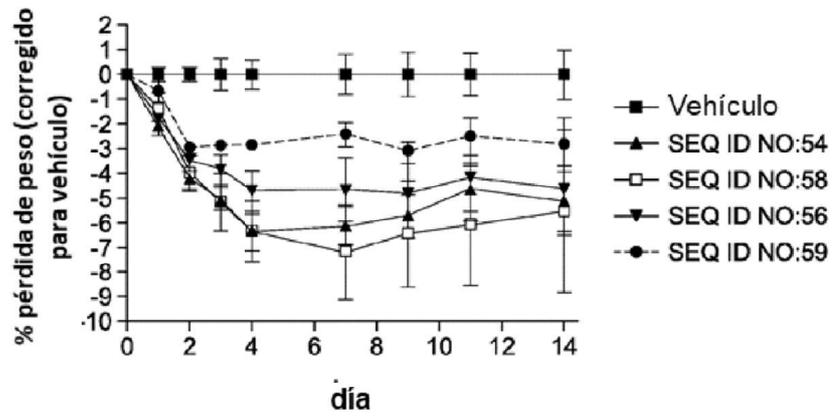


FIG. 7

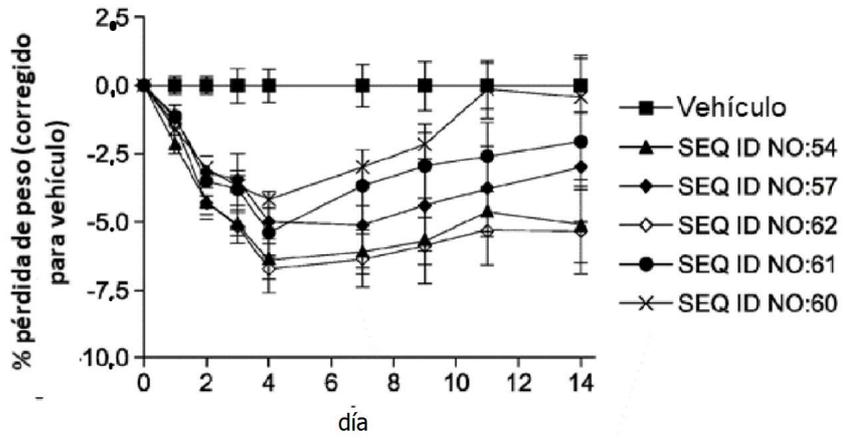
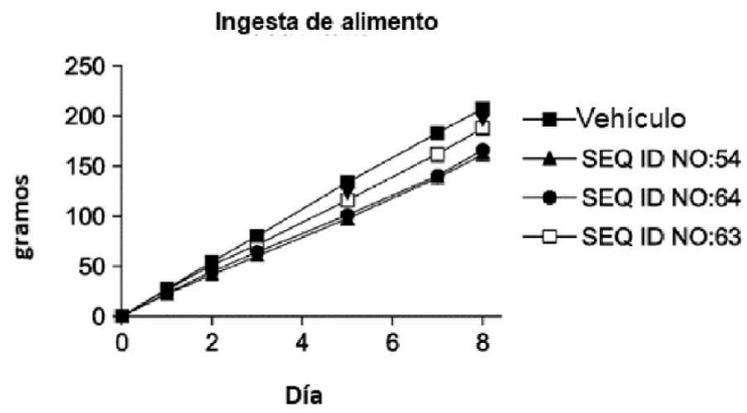
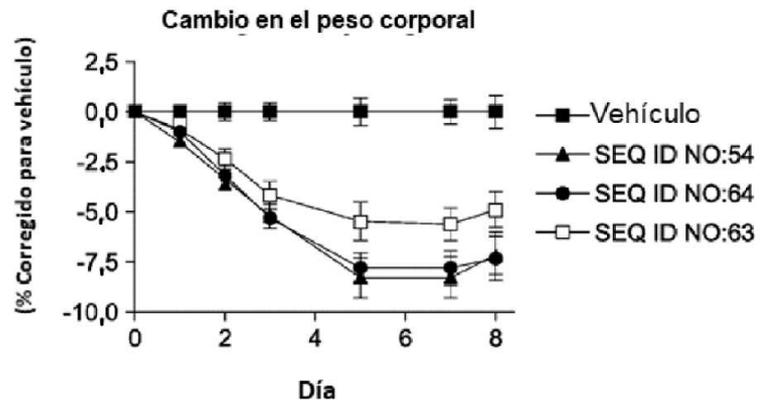


FIG. 8



*FIG. 9A*



*FIG. 9B*

Cambio en el porcentaje de peso corporal (corregido para vehículo)

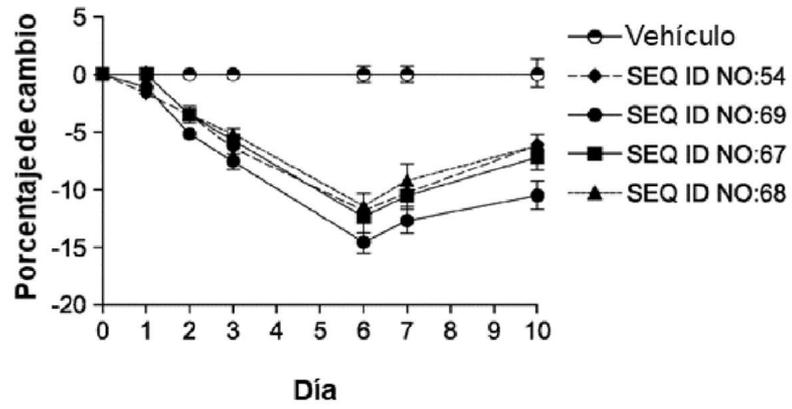
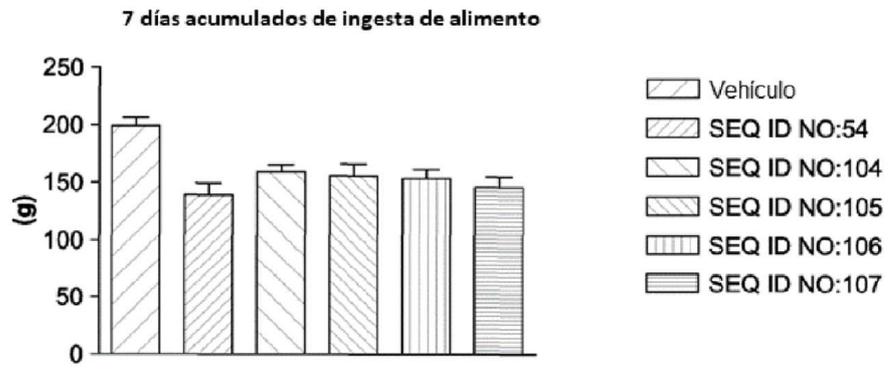


FIG. 10



*FIG. 11A*

Cambio en el peso corporal (corregido para vehículo)

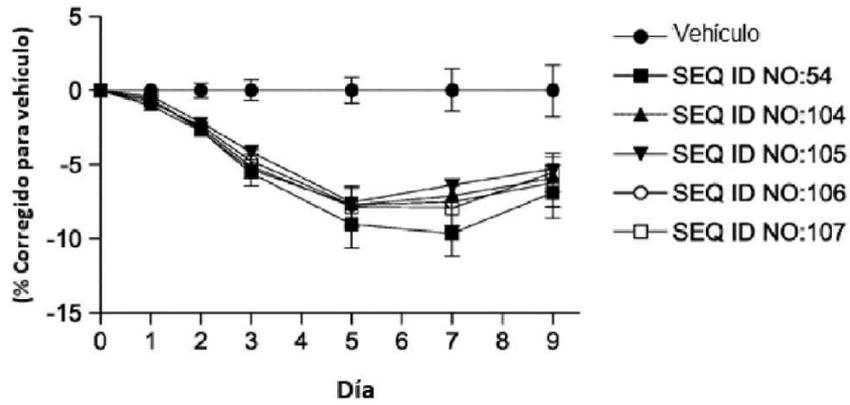


FIG. 11B

Cambio en el peso corporal

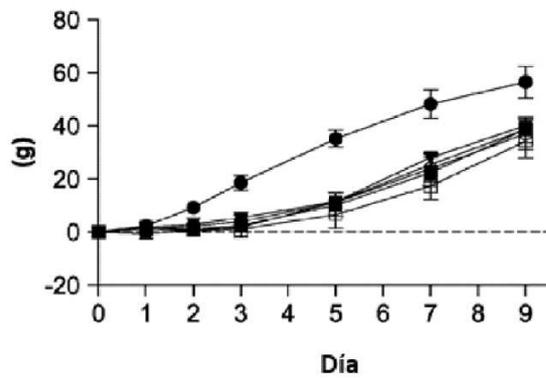
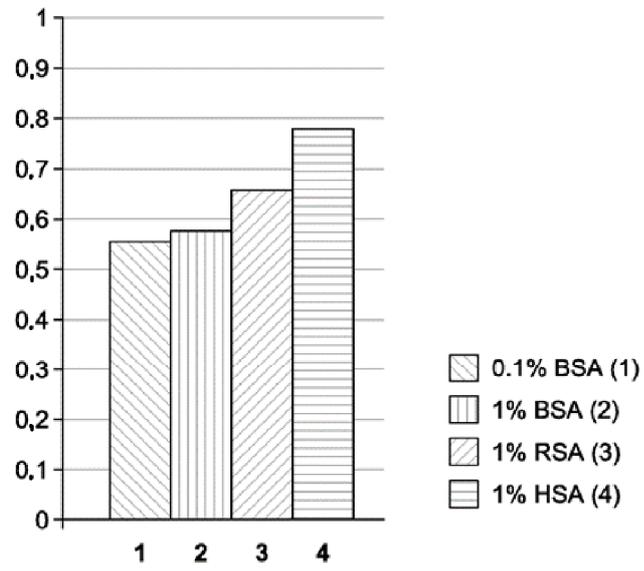
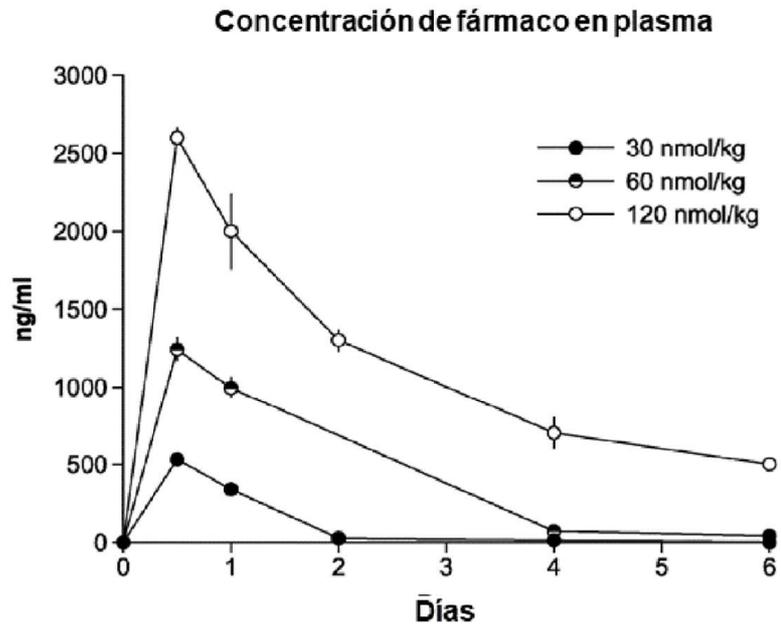


FIG. 11C



*FIG. 12*



*FIG. 13*

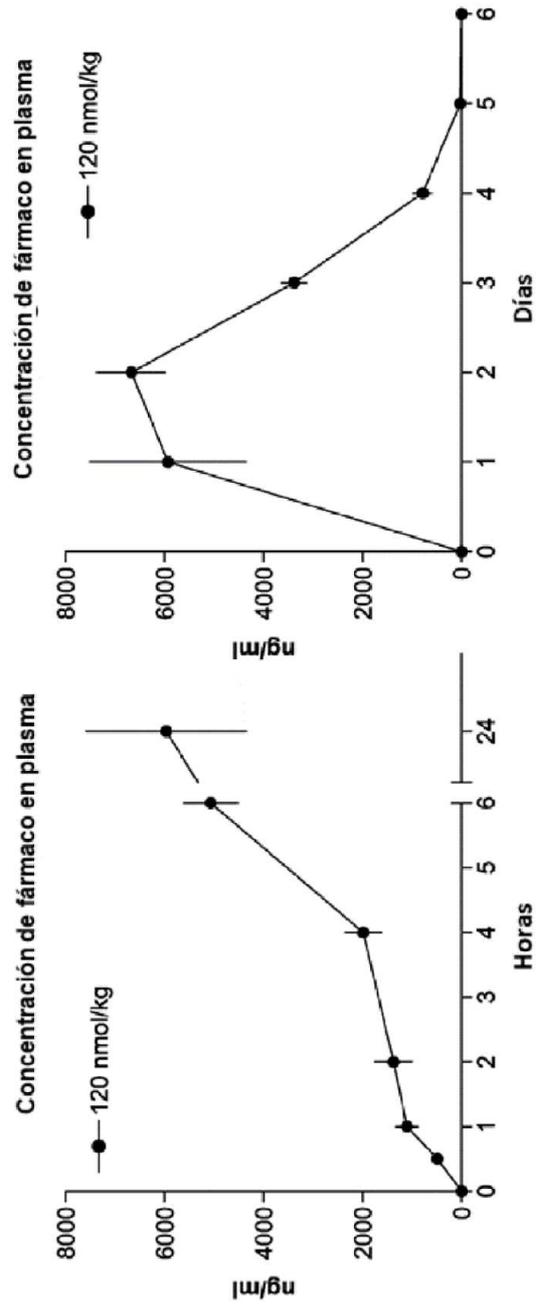
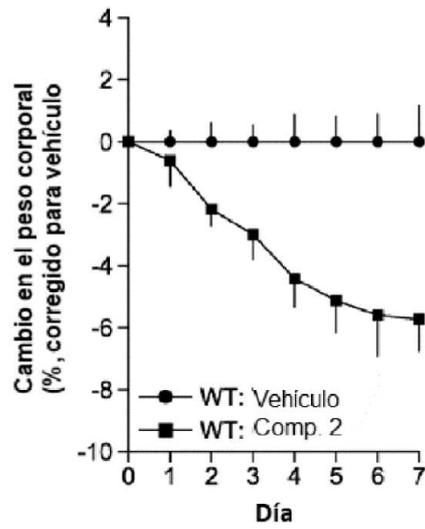
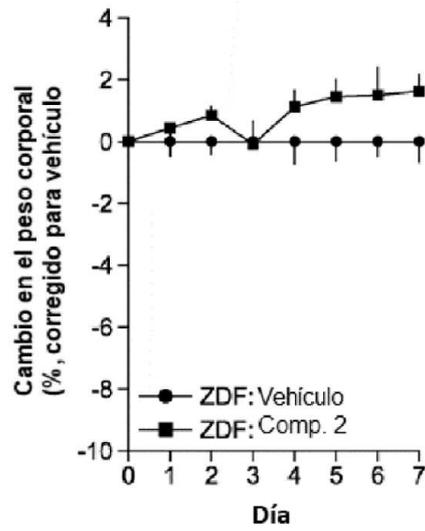


FIG. 14



*FIG. 15A*



*FIG. 15B*

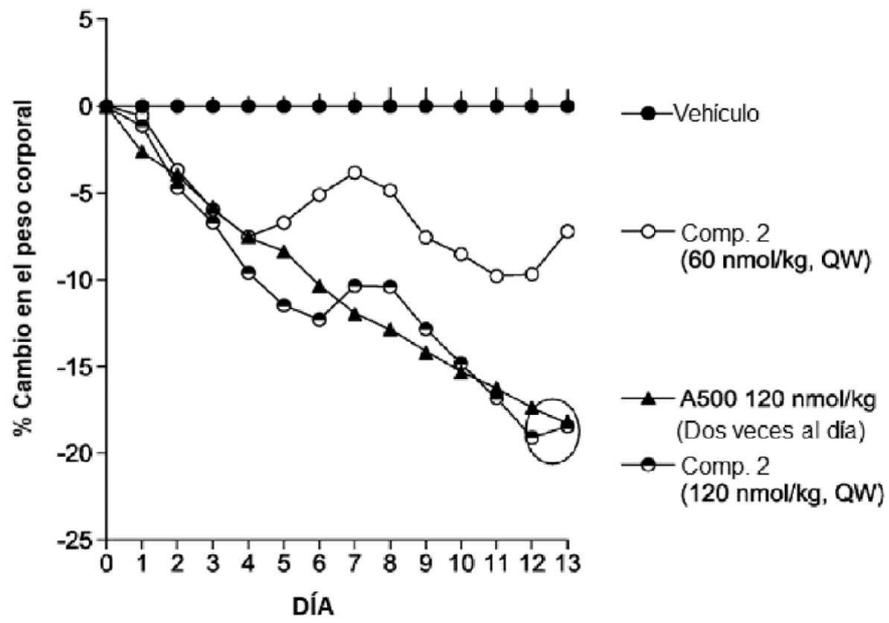


FIG. 16

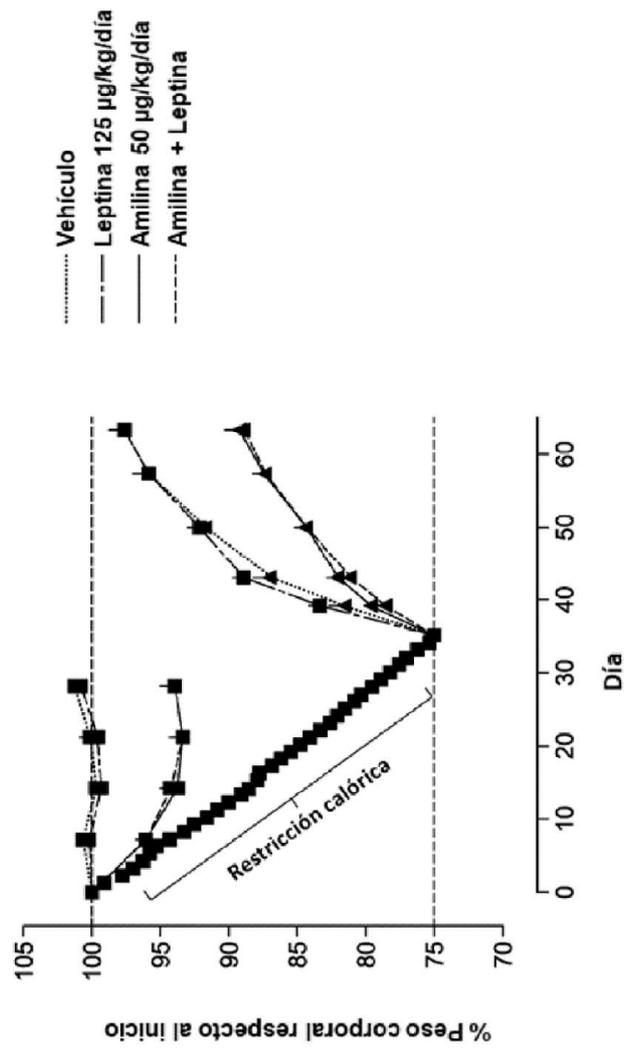


FIG. 17

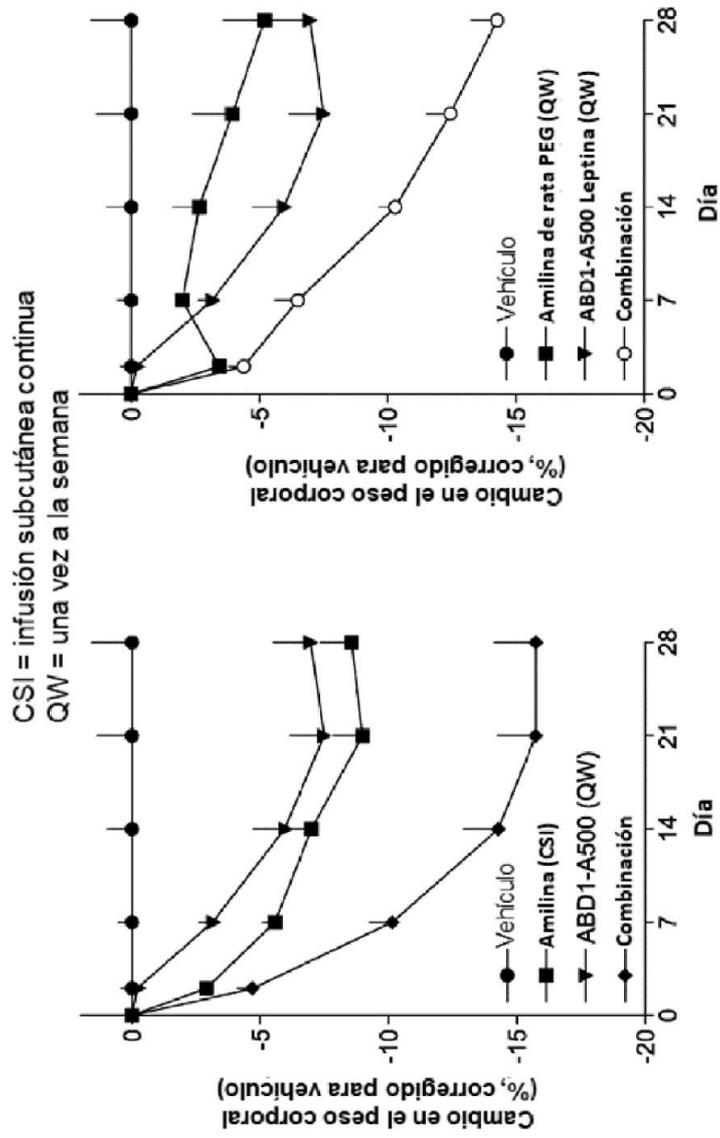
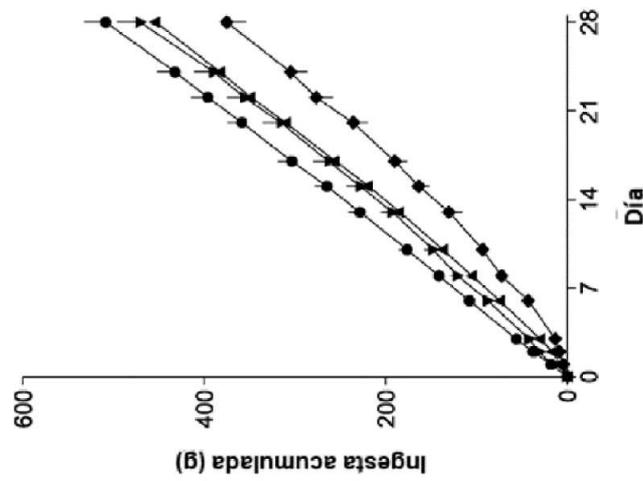
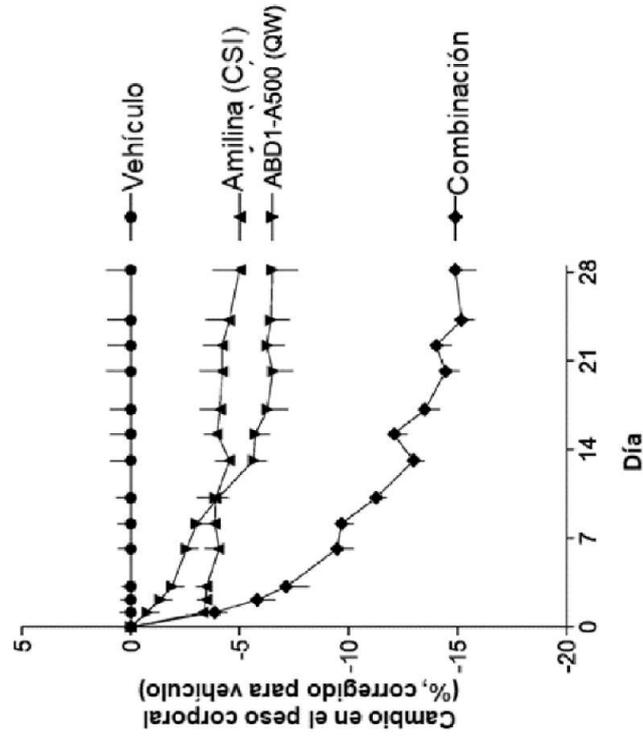
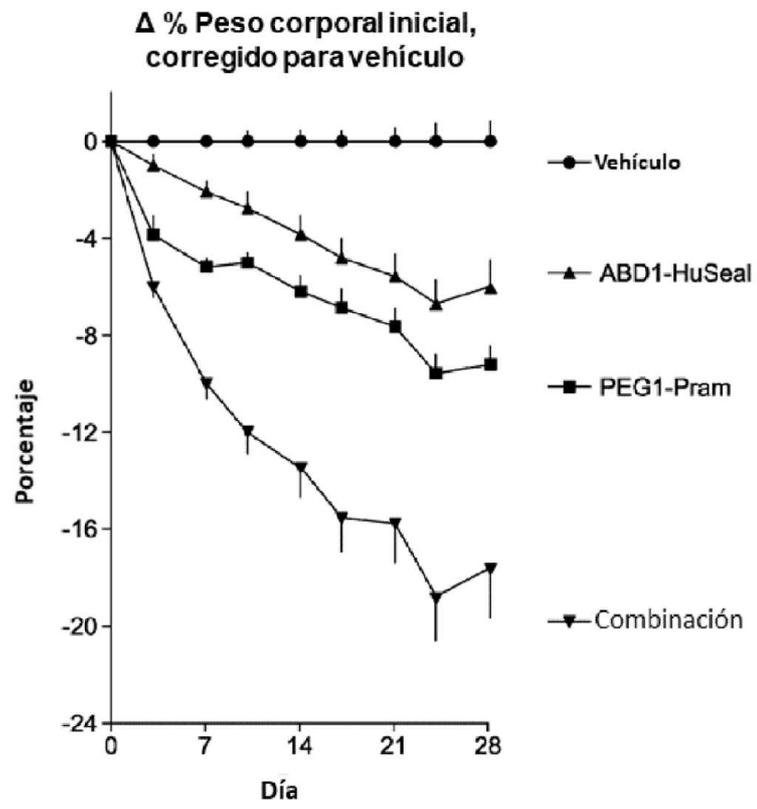


FIG. 18B

FIG. 18A





*FIG. 20*

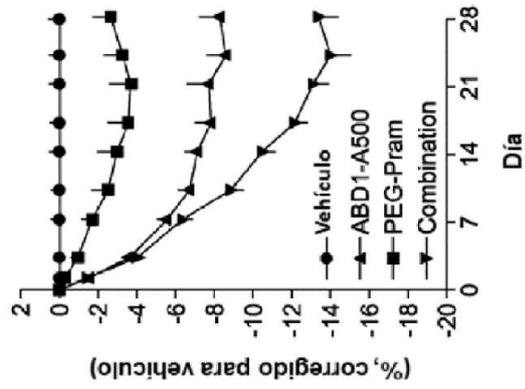


FIG. 21C

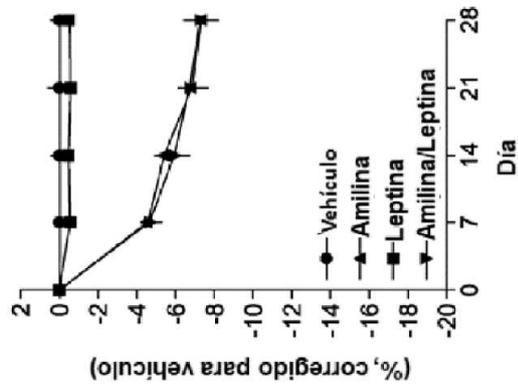


FIG. 21B

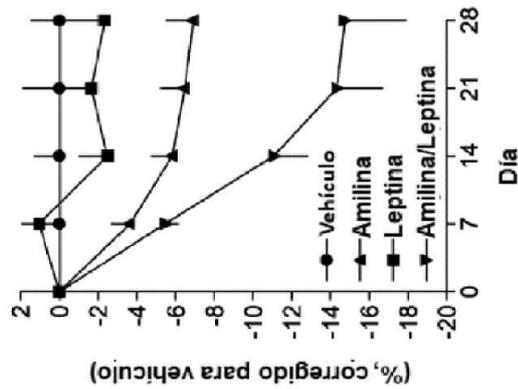


FIG. 21A

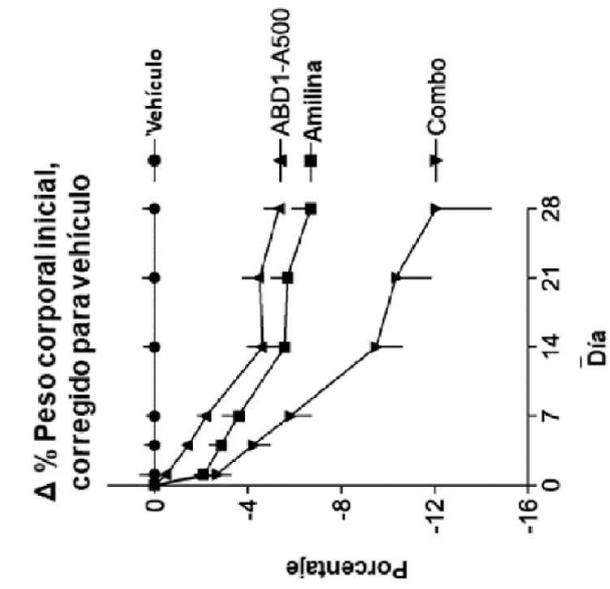


FIG. 22A

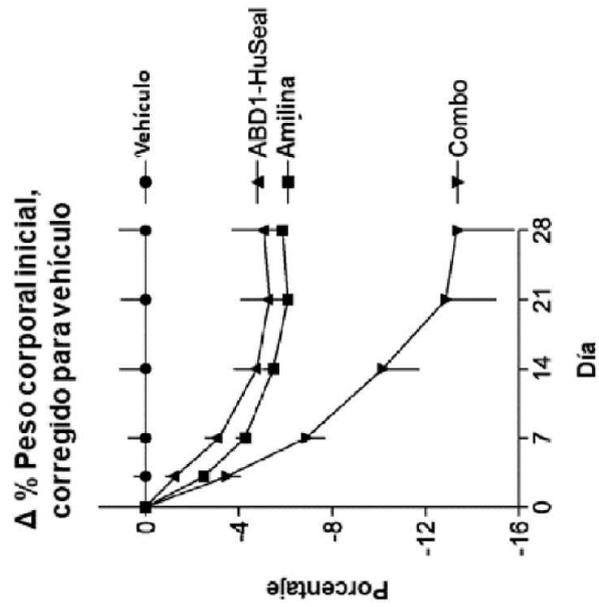


FIG. 22B

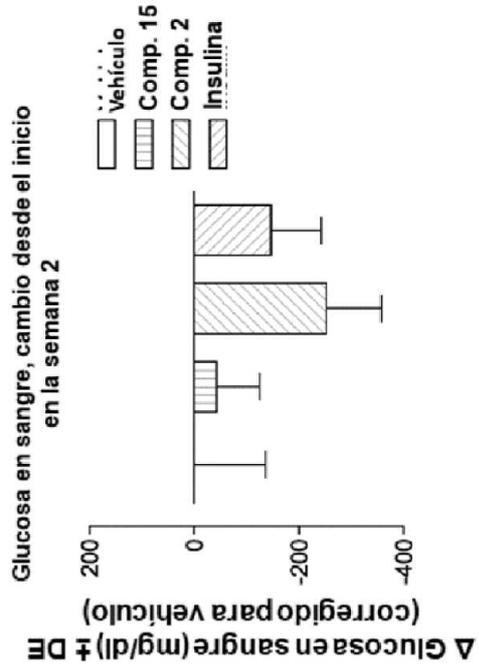


FIG. 23B

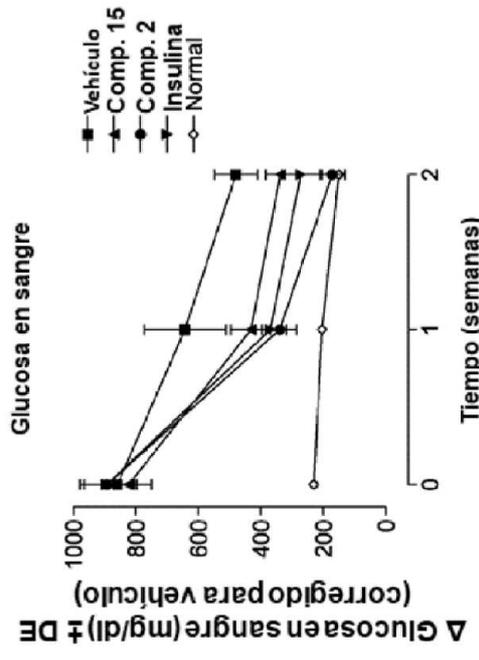


FIG. 23A

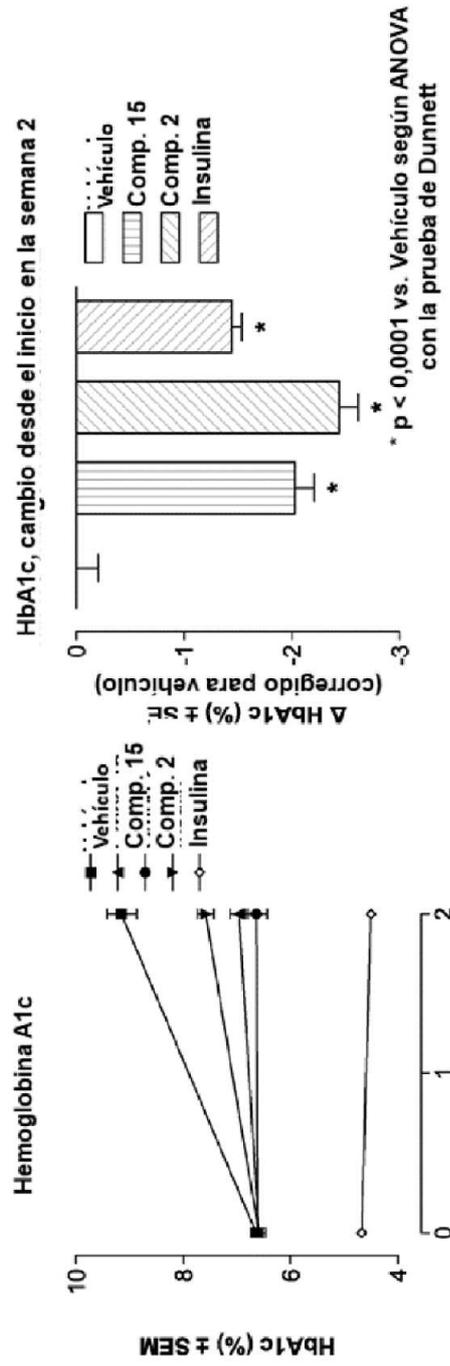
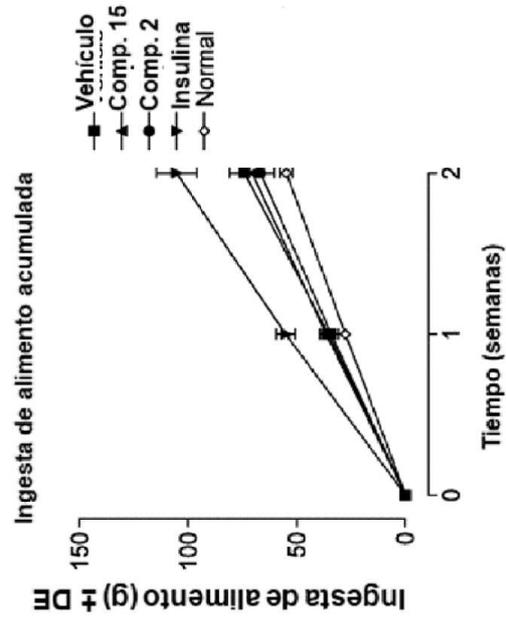
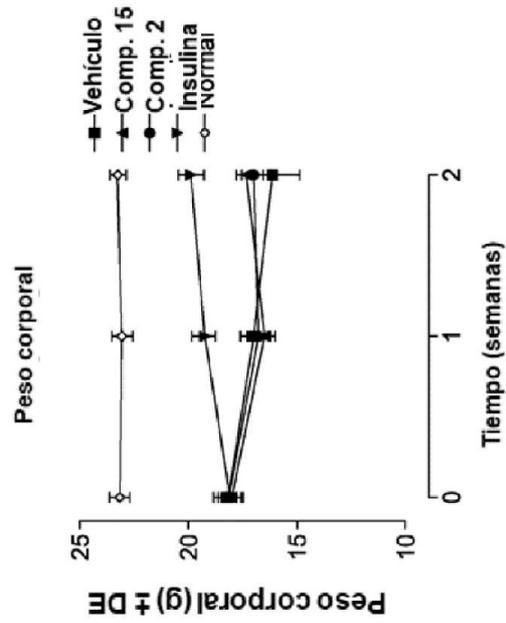


FIG. 24A

FIG. 24B



*FIG. 25B*



*FIG. 25A*

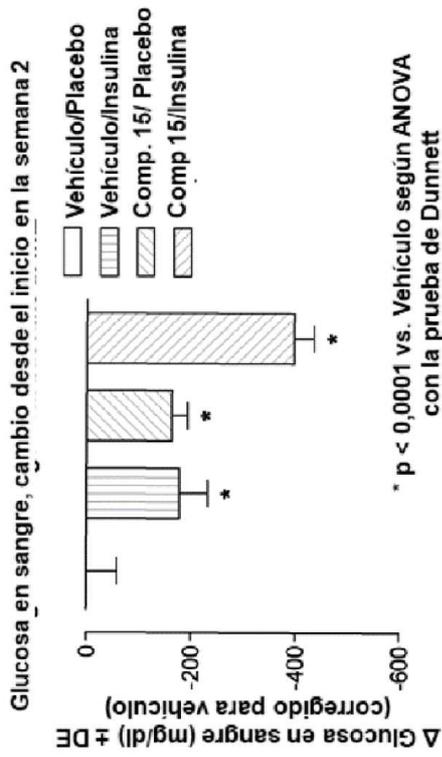


FIG. 26B

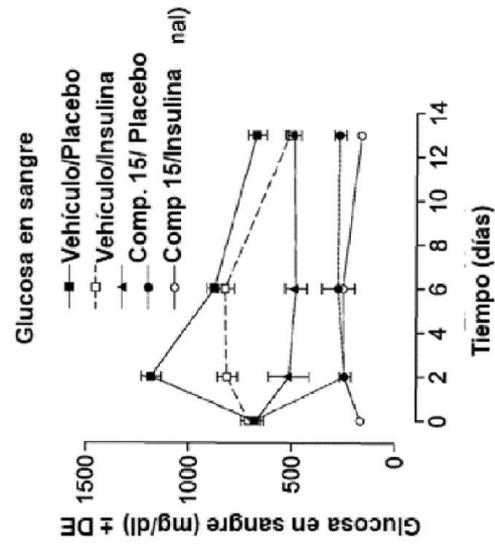


FIG. 26A

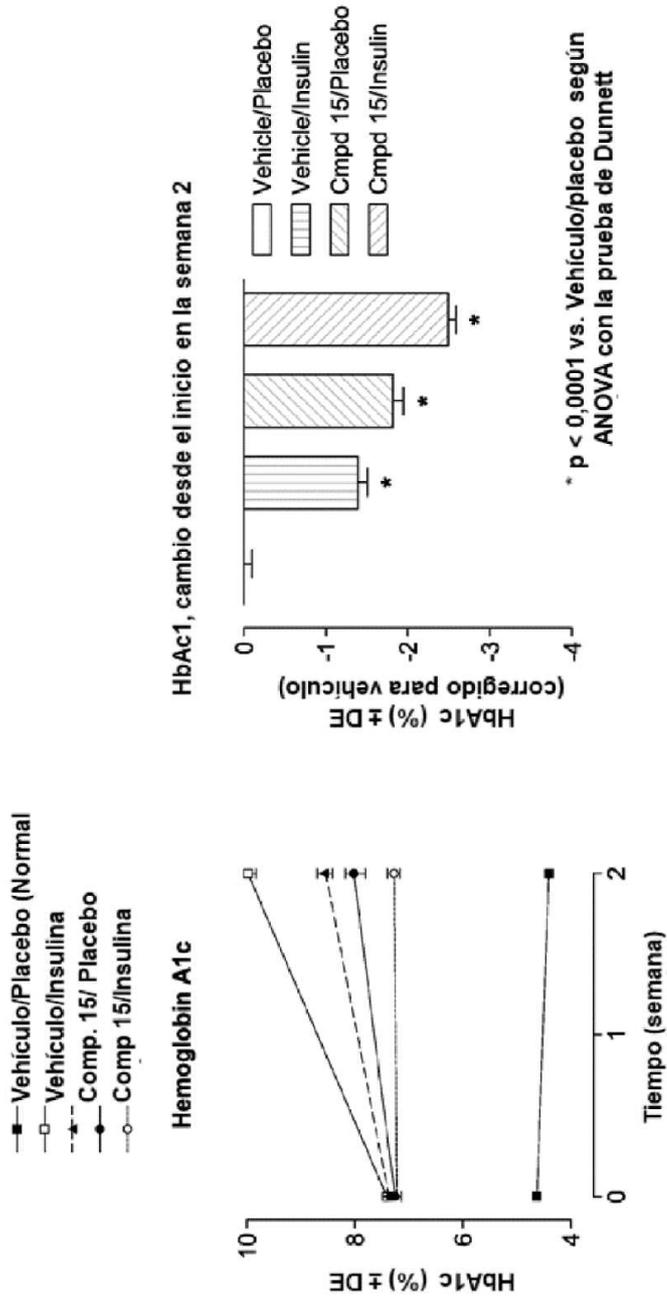


FIG. 27A

FIG. 27B

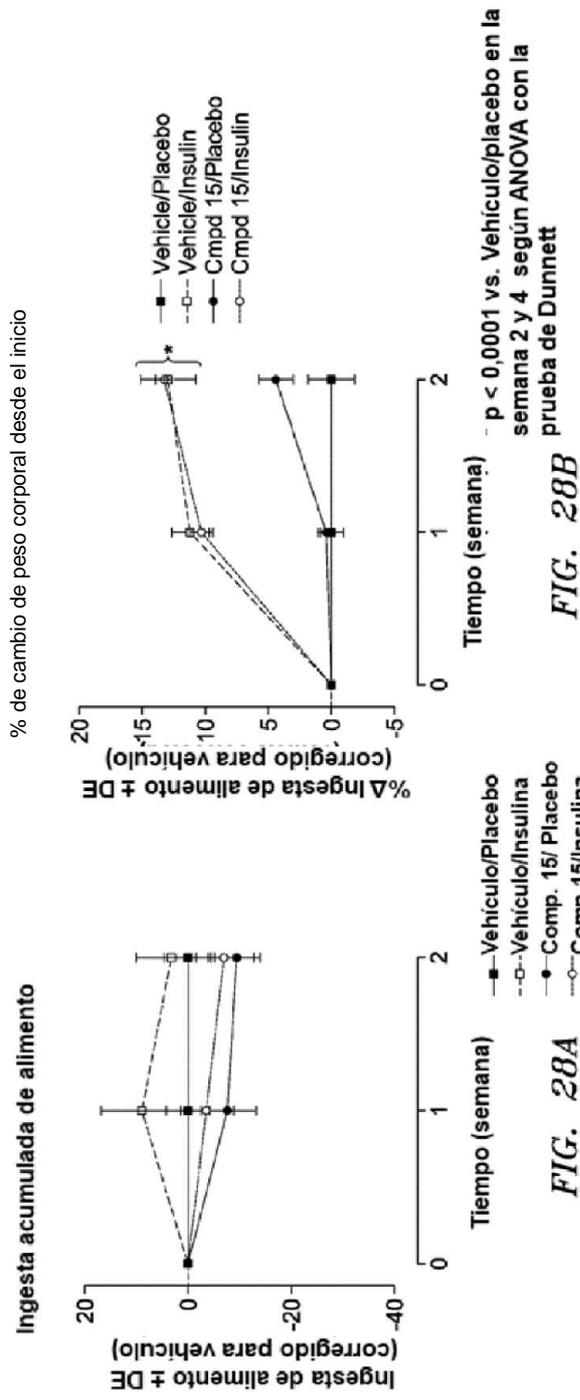


FIG. 28A

FIG. 28B