SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 11-167163- -00000-0000
Fecha: 2011-12-05 15:34:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 530

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCIÓN

21. **EXPEDIENTE Nº** _____

54. **TÍTULO** **MUTANTES FGF21 Y USOS DE LOS MISMOS.**

51. **CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL** A61K 38/18

71. **SOLICITANTE** **AMGEN INC.**

DOMICILIO Thousand Oaks, California, Estados Unidos de América

74. **APODERADO** DILIA MARIA RODRIGUEZ D´ALEMAN

22. **BOGOTÁ, D.C.** _____

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 11-167163- -00000-0000
Fecha: 2011-12-05 15:34:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 530

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

1 SOLICITUD DE:

[X] Patente de Invención [ ] Patente de Modelo de Utilidad

[X] Capitulo I. [ ] Capítulo II.

2 SOLICITANTE (71)	**Nombre:** **AMGEN INC.** **Dirección:** One Amgen Center Drive, Thousand Oaks, California 91320-1799, Estados Unidos de América. **Nacionalidad o domicilio:** Thousand Oaks, California, Estados Unidos de América **Lugar de Constitución:** California, Estados Unidos de América	**IDENTIFICACIÓN** **C.C.** [ ] **NIT** [ ] **C.E.** [ ] **Otro** [ ] **Número**
3 REPRESENTANTE O APODERADO (74)	Nombre: DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D´ALEMAN Dirección: Carrera 11 No. 86-53, piso 6 Teléfono: 6 181088 Fax: 6350824 E-mail: clarkemodet@clarkemodet.com.co	**IDENTIFICACIÓN** C.C. [X] NIT [ ] C.E. [ ] Otro [ ] Número 41.654.882 TP 20824 CSJ
4 INVENTOR (ES) (72)	Nombre: **VER HOJA ANEXA** Dirección: Nacionalidad o domicilio:	

5 PCT (86)

Solicitud Internacional No. **PCT/US2010/033478** Fecha **04 de mayo de 2010**

Publicación Internacional No. **WO 2010/129503 A1** Fecha **11 de noviembre de 2010**

6 TITULO (54) **MUTANTES FGF21 Y USOS DE LOS MISMOS.**

7 Clasificación Internacional (51) A61K 38/18

8 Prioridad SI [X] NO [ ]	(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
	Estados Unidos de América	05 de mayo de 2009	61/175.736
	Estados Unidos de América	09 de diciembre de 2009	61/285.118

9 Comprobante de pago No. 11-109616 // 11-92769 // 11-109620 // 11-109578// 11-109716
Fecha 09 de noviembre de 2011 // 21 de septiembre de 2011

10 **ANEXOS**

- ☐ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☐ Poderes si fuere el caso
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones Regla 4.17
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso copia de contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- ☐ De ser el caso, certificado de deposito del material biológico
- ☐ Arte final 12 X 12 .
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional
- ☐ Otros

11 FIGURA CARACTERÍSTICA

12 Solicito la concesión de la patente

NOMBRE : DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D´ALEMAN

FIRMA:

C.C. 41.654.882 **T.P. 20824**

As. P-3133

ANEXO

INVENTORES

1.) **BELOUSKI, Edward John**
(4541 La Tuna Court, Camarillo, California 93012, Estados Unidos de América);

2.) **ELLISON, Murielle Marie**
(645 Camino Manzanas, Thousand Oaks, California 91360, Estados Unidos de América);

3.) **HAMBURGER, Agnes Eva**
(3885 Calle Alta Vista, Thousand Oaks, California 91320, Estados Unidos de América);

4.) **HECHT, Randy Ira**
(2569 Piccadilly Circle, Thousand Oaks, California 91362, Estados Unidos de América);

5.) **LI, Yue-Sheng**
(3025 Shadow Hill Circle, Thousand Oaks, California 91360, Estados Unidos de América);

6.) **MICHAELS, Mark Leo**
(5007 Texhoma Avenue, Encino, California 91316, Estados Unidos de América);

7.) **SUN, Jeonghoon**
(4340 Camino de la Rosa, Thousand Oaks, California, 91320, Estados Unidos de América);

8.) **XU, Jing**
(1677 Glider Court, Thousand Oaks, California 91320, Estados Unidos de América).

000002

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 109616

Bogotá D.C., Noviembre 09 de 2011 - 16:56:02

RECIBIDO DE : CLARKE MODET NI 830.008.643

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR.PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	325089214	09/11/2011	59.855.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCION	571.000.00	571.000.00
				$571.000.00

SON: **QUINIENTOS SETENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
- **/ -

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 11-167163- -00000-0000
Fecha: 2011-12-05 15:34:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 530

000003

P31/33

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0092769

Bogotá D.C., Septiembre 21 de 2011 - 16:32:06

RECIBIDO DE : CLARKE MODET NI 830.008.643

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	353179256	21/09/2011	65.400.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-02 PRORROGAS Y RENOVACIONES	30 PRORROGAS Y RENOVACIONES	819.000.00	819.000.00
				$819.000.00

SON: **OCHOCIENTOS DIECINUEVE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
-***-
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 11-167163- -00000-0000
Fecha: 2011-12-05 15:34:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 530

000004

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 109620

Bogotá D.C., Noviembre 09 de 2011 - 16:56:02

RECIBIDO DE : CLARKE MODET NI 830.008.643

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR.PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	325089214	09/11/2011	59.855.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCION	571.000.00	571.000.00
				$571.000.00

SON: **QUINIENTOS SETENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
****

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 11-167163- -00000-0000

Fecha: 2011-12-05 15:34:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 530

000375

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 109578

Bogotá D.C., Noviembre 09 de 2011 - 16:56:02

RECIBIDO DE : CLARKE MODET NI 830.008.643

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	325089214	09/11/2011	59.855.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVCIOS ADMINISTRATIVOS	100.000.00	100.000.00
				$100.000.00

SON: **CIEN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 11-167163- -00000-0000
Fecha: 2011-12-05 15:34:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 530

000006

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
-/-

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 109716

Bogotá D.C., Noviembre 09 de 2011 - 16:56:02

RECIBIDO DE : CLARKE MODET NI 830.008.643

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR.PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	325089214	09/11/2011	59.855.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVCIOS ADMINISTRATIVOS	50.000.00	50.000.00
				$50.000.00

SON: **CINCUENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
-****-

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 11-167163- -00000-0000

Fecha: 2011-12-05 15:34:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 530

000007

P3133

P-3133

State of California
Secretary of State

APOSTILLE (Convention de La Haye du 5 octobre 1961)			
1. Country: Pays / País:	United States of America		
This public document Le présent acte public / El presente documento público			
2. has been signed by a été signé par ha sido firmado por	*Karen E. Podgorny*		
3. acting in the capacity of agissant en qualité de quien actúa en calidad de	*Notary Public, State of California*		
4. bears the seal / stamp of est revêtu du sceau / timbre de y está revestido del sello / timbre de	*Karen E. Podgorny, Notary Public, State of California*		
Certified Attesté / Certificado			
5. at à / en	Sacramento, California	**6. the** le / el día	*8th day of November 2011*
7. by par / por	Secretary of State, State of California		
8. N° sous n° bajo el número	*69673*		
9. Seal / stamp: Sceau / timbre: Sello / timbre:		**10. Signature:** Signature: Firma:	

This Apostille is the trilingual model Apostille Certificate as suggested by the Permanent Bureau and developed in response to the 2009 Special Commission on the practical operation of the Hague Apostille Convention.
This Apostille only certifies the authenticity of the signature and the capacity of the person who has signed the public document, and, where appropriate, the identity of the seal or stamp which the public document bears.
This Apostille does not certify the content of the document for which it was issued.
This Apostille is not valid for use anywhere within the United States of America, its territories or possessions.
To verify the issuance of this Apostille, see: www.sos.ca.gov/business/notary/apostille-search/.

Cette apostille est le modèle d'Apostille trilingue tel que suggéré par le Bureau Permanent et élaboré en réponse à la Commission spéciale de 2009 sur le fonctionnement pratique de la Convention de La Haye Apostille.
Cette Apostille atteste uniquement la véracité de la signature, la qualité en laquelle le signataire de l'acte a agi et, le cas échéant, l'identité du sceau ou timbre dont cet acte public est revêtu.
Cette Apostille ne certifie pas le contenu de l'acte pour lequel elle a été émise.
L'utilisation de cette Apostille n'est pas valable en / au États-Unis d'Amérique, ses territoires où possessions.
Cette Apostille peut être vérifiée à l'adresse suivante: www.sos.ca.gov/business/notary/apostille-search/.

Esta apostilla es el modelo trilingüe Certificado de Apostilla según lo sugerido por la Oficina Permanente y desarrollado en respuesta a la Comisión especial de 2009 sobre el funcionamiento práctico del Convenio de La Haya sobre Apostilla
Esta Apostilla certifica únicamente la autenticidad de la firma, la calidad en que el signatario del documento haya actuado y, en su caso, la identidad del sello o timbre del que el documento público esté revestido.
Esta Apostilla no certifica el contenido del documento para el cual se expidió.
No es válido el uso de esta Apostilla en Estados Unidos de América, sus territorios o posesiones.
Esta Apostilla se puede verificar en la dirección siguiente: www.sos.ca.gov/business/notary/apostille-search/.

000003

A-1429-CO-PCT2

COLOMBIA

Carrera 11 Nº 86-53 Piso 6 Bogotá Colombia Tel: (57 1) 6181088 ·Fax: (57 1) 6350824·Email: info@clarkemodet.com.co

PODER

Yo (nosotros), abajo firmante(s)

en mi (nuestro) carácter de representante(s) legales de

una sociedad organizada y existente de acuerdo con las leyes de

y en actual cumplimiento de su objeto social, con domicilio en

por el presente instrumento confiero (conferimos) poder especial a favor de DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN, con Cédula de Ciudadanía No. 41.654.882 de Bogotá, y tp. 20824 con domicilio en Bogotá, Colombia, para que actuando en su orden en nombre del (de la) otorgante le (la) representen ante cualquier entidad, autoridad y/o persona, especialmente ante las del orden Administrativo, Contencioso Administrativo, Judicial, Tribunales de Arbitramiento y/o cualquier otro en lo referente a los siguientes asuntos:

1) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar cualquiera de las modalidades de Propiedad Industrial, tales como: patentes de invención, modelos de utilidad: diseños industriales, variedades vegetales; marcas, lemas, nombres y enseñas comerciales y denominaciones de origen; así como sus renovaciones, prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
2) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar derechos de autor, en cualquiera de sus presentaciones así como la protección de secretos industriales y know-how.
3) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar registros sanitarios, permisos y/o licencias de funcionamiento; así como sus renovaciones o prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
4) Ejercer acciones de oposición, observación, reclamos, reconsideración, reposición, apelación, cancelación administrativa o judicial, nulidad, protección al consumidor, concesión de licencias, protección de secretos industriales y demás acciones y recursos relacionados con derechos derivados de los asuntos arriba indicados y en contra de la competencia desleal, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias, acciones de indemnización de perjuicios. También podrá(n) intervenir en juicios civiles, comerciales, penales, contencioso-administrativos, tutelas y de policía; en acciones o juicios promovidos por el (la) mandante o en contra el (ella).
5) Registrar nombres de dominio ante la entidad competente.
6) En el ejercicio de este mandato los mandatarios arriba mencionados quedan facultados para: conciliar, cancelar, transigir, comprometer en árbitros, desistir, recibir y tomar posesión de la cosa objeto de litigio y renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesion, admitir los hechos del proceso.
7) Ratificar o no la agencia oficiosa.
8) Así mismo faculto (facultamos) a los mencionados apoderados para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales, sustituir el presente poder y revocar las sustituciones que hicieren.

Dado y firmado en

a los días de

POWER OF ATTORNEY

I (we), the undersigned

legal representative(s) of

an organization existing under the laws of **AMGEN INC.**

and in present execution of its business activity, domiciled at **One Amgen Center Drive, Thousand Oaks, California 91320-1799, U.S.A.**

do hereby grant POWER OF ATTORNEY to DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN, identification card No. 41.654.882 of Bogotá, and tp. 20824 residing in Bogotá Colombia, to act in the order of their appointment in behalf of grantor before any entity, authority and/or natural or juridical person, specially before those Administrative, Administrative-Contentious, Judicial, arbitration courts, and/or any other, in all matters concerning the following:

1) To apply, process, obtain and/or register any of the modalities of Industrial Property, such as: Parents of Invention, Utility Models; Designs, plant varieties; ~~Marks, Slogans, Trade Names~~ and emblems and appellations of Origin; as well as their renewals, assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
2) To apply, process, obtain and/or register copyrights of any kind as well as protection of industrial secrets or know-how.
3) To apply, process, obtain and/or register sanitary registrations, operating authorizations and or licenses; as well as their renewals or assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
4) To bring actions of opposition, observations, claims, reconsideration, appeal or legal remedies, cancellations, nullity, protection to the consumer, granting of licenses, protection of trade secrets and other actions related with rights derived from the above- mentioned matters and against the unfair competition, actions resulting from the obtaining or exploitation of licenses, recovering damages actions. They can also intervene or participate in Civil, Commercial, Criminal or Contentious-Administrative Trials; the actions for writ mandamus, police actions; in actions, lawsuits or litigations instituted by the grantor or against him
5) To register domain names before the competent entity.
6) To the effect of this mandate the above-named proxy are empowered to: conciliate, cancel, settle, submit to arbitration, withdraw and to receive and take possession of the litigation related objet and waive or renounce the rights granted or in process of granting, admit the facts of the case.
7) To ratify or not the officious agency.
8) I (we) hereby appoint the afore mentioned attorneys with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys, substitute this Power of Attorney and to revoke such sustitutions.

For obtaining patent of PCT/US2010/033478

Granted and signed at Thousand Oaks, Ventura County, CA US

on this 3rd day of November of 2011

000009

Firma / signatura

Stuart L. Watt
Vice President, LAW

CALIFORNIA ALL-PURPOSE ACKNOWLEDGMENT

CIVIL CODE § 1189

State of California

County of Ventura

On November 3, 2011 before me, Karen E. Podgorny, Notary Public
Date — Here Insert Name and Title of the Officer

personally appeared Stuart L. Watt
Name(s) of Signer(s)

who proved to me on the basis of satisfactory evidence to be the person(s) whose name(s) is/are subscribed to the within instrument and acknowledged to me that he/she/they executed the same in his/her/their authorized capacity(ies), and that by his/her/their signature(s) on the instrument the person(s), or the entity upon behalf of which the person(s) acted, executed the instrument.

KAREN E. PODGORNY
Commission # 1906106
Notary Public - California
Ventura County
My Comm. Expires Oct 28, 2014

I certify under PENALTY OF PERJURY under the laws of the State of California that the foregoing paragraph is true and correct.

WITNESS my hand and official seal.

Signature: Karen E. Podgorny
Signature of Notary Public

Place Notary Seal Above

OPTIONAL

Though the information below is not required by law, it may prove valuable to persons relying on the document and could prevent fraudulent removal and reattachment of this form to another document.

Description of Attached Document

Title or Type of Document: _____

Document Date: _____ Number of Pages: _____

Signer(s) Other Than Named Above: _____

Capacity(ies) Claimed by Signer(s)

Signer's Name: _____	Signer's Name: _____
☐ Corporate Officer — Title(s): _____	☐ Corporate Officer — Title(s): _____
☐ Individual	☐ Individual
☐ Partner — ☐ Limited ☐ General	☐ Partner — ☐ Limited ☐ General
☐ Attorney in Fact	☐ Attorney in Fact
☐ Trustee	☐ Trustee
☐ Guardian or Conservator	☐ Guardian or Conservator
☐ Other: _____	☐ Other: _____
Signer Is Representing: _____	Signer Is Representing: _____
RIGHT THUMBPRINT OF SIGNER — Top of thumb here	RIGHT THUMBPRINT OF SIGNER — Top of thumb here

000010

© 2010 National Notary Association • NationalNotary.org • 1-800-US NOTARY (1-800-876-6827)

Item #5907

SCD - 3133

JIMENA ESCOBAR URIBE
Traductor e Intérprete Oficial
Resolución No. 0369 Min. Justicia 1995

Traducción oficial hecha por Jimena Escobar Uribe, traductora e intérprete oficial según resolución No. 0369 de 1995 del Ministerio de Justicia, del documento legalizado mediante la **APOSTILLA** No. **69673** de 8 de noviembre de 2011 expedida en Estados Unidos de América (Estado de California) correspondiente a un documento de poder de **AMGEN INC.**, domiciliada en Thousand Oaks, California, Estados Unidos de América.

-

Poder

Yo, el suscrito, representante legal de **AMGEN INC.**, una sociedad existente bajo las leyes de y que actualmente ejerce su actividad corporativa, domiciliada en **One Amgen Center Drive, Thousand Oaks, California 91320, Estados Unidos de América**

(Nota del traductor: El resto del documento se encuentra con idéntico texto en la parte izquierda del documento en idioma español, razón por la cual no se hace su traducción. Además en el punto 1) del documento se encuentran tachadas las expresiones: marcas, lemas comerciales, nombres).

Para obtener la patente PCT /US 2010/ 033478

Documento de poder firmado el 3 de noviembre de 2011 en Thousand Oaks, Condado de Ventura, California, Estados Unidos por Stuart L. Watt, vicepresidente legal

---

RECONOCIMENTO PARA TODO PROPÓSITO DE CALIFORNIA

Estado De California
Condado de Ventura

El 3 de noviembre de 2011 ante mí, Karen E. Podgorny, notario público
Fecha Aquí inserte nombre y Título del Oficial

000011

personalmente compareció Stuart L. Watt
(Nombre(s) de Firmante(s))

Quien probó ante mí con base en evidencia satisfactoria ser la persona(s) cuyo(s) nombre(s) está(n) inscritos en el instrumento anexo y me reconoció que él ejecutó el mismo en su capacidad autorizada y que por su(s) firma(s) en el instrumento la(s) persona(s) o la entidad a nombre de la cual dicha(s) persona(s) actuó(aron), ejecutó el instrumento.

Yo certifico bajo PENA DE PERJURIO bajo las leyes del Estado de California que el párrafo anterior es verdadero y correcto.

EN TESTIMONIO, pongo mi firma y sello oficial

Sello: Karen E. Podgorny, comisión No. 1906106, notario público, California, Condado de Ventura, mi comisión termina el 28 de octubre de 2014
Poner sello notarial oficial arriba

****

ESTADO DE CALIFORNIA
SECRETARIO DE ESTADO

Esta Apostilla únicamente certifica la autenticidad de la firma y el título del oficial que ha firmado el documento público y, cuando sea apropiado, la identidad del sello o estampilla que lleva el documento público. Esta Apostilla no certifica la autenticidad del documento para el cual fue expedida. Esta Apostilla no es válida para uso en ningún lugar dentro de los Estados Unidos, sus territorios o posesiones. Para verificar la expedición de esta Apostilla vaya a www.sos.ca.gov/business/notary/apostille-search/

APOSTILLA
(Convención de la Haya de 5 de octubre de 1961) 000012

1. País: Estados Unidos de América
   Este documento público
2. ha sido firmado por Karen E. Podgorny
3. actuando en su calidad de Notario Público, Estado de California
4. lleva el sello/estampilla de Karen E. Podgorny, Notario Público, Estado de California

CERTIFICADO

5. En Sacramento, California
6. El 8 de noviembre de 2011
7. Por Diputado Secretario de Estado, Estado de California
8. NO. 69673
9. Sello/Estampilla: Sello del Estado de California
10. Firma: ilegible, Secretario de Estado

Por: Firma ilegible

Sello de la Secretaría de Estado

JIMENA ESCOBAR URIBE
Traductor e Intérprete Oficial
Resolución No. 0369 Min. Justicia 1995

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES
2011 NOV 23 P 2:04
OFICINA DE LEGALIZACIONES BOGOTA D.C.

NO SE ASUME RESPONSABILIDAD SOBRE EL TEXTO
LA FIRMA QUE APARECE EN EL DOCUMENTO CORRESPONDE A LA PERSONA QUE ACTUA EN LAS CALIDADES INDICADAS
10 1488

000013

P-2656

A-5-85

Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. *Country: United States of America*

This public document:

2. *has been signed by Jeffrey W. Bullock*

3. *acting in the capacity of Secretary of State of Delaware*

4. *bears the seal/stamp of Office of Secretary of State*

Certified

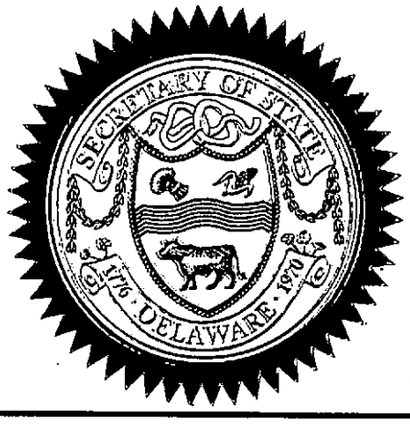
5. *at Dover, Delaware*

6. *the twenty-eighth day of January, A.D. 2011*

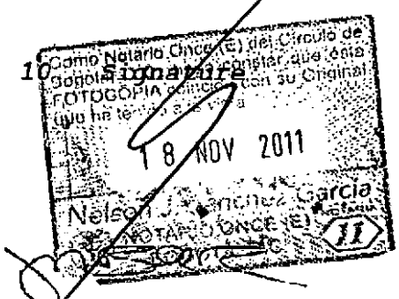
7. *by Secretary of State, Delaware Department of State*

8. *No. 0433335*

9. *Seal/Stamp:*



10. *Signature*



Secretary of State

000014 8

Delaware

The First State

I, JEFFREY W. BULLOCK, SECRETARY OF STATE OF THE STATE OF DELAWARE, DO HEREBY CERTIFY "AMGEN INC." IS DULY INCORPORATED UNDER THE LAWS OF THE STATE OF DELAWARE AND IS IN GOOD STANDING AND HAS A LEGAL CORPORATE EXISTENCE SO FAR AS THE RECORDS OF THIS OFFICE SHOW, AS OF THE TWENTY-EIGHTH DAY OF JANUARY, A.D. 2011.

Como Notaría Once (E) del Círculo de Bogotá, D.C., hago constar que ésta FOTOCOPIA concide con su Original que he visto a la vista

18 NOV 2011

Nelson J. Sánchez García
NOTARIO ONCE (E)
BOGOTÁ D.C.
NOTARÍA 11

SECRETARY OF STATE
1776 · DELAWARE · 1970

Jeffrey W. Bullock, Secretary of State

2106150 8300

AUTHENTICATION: 8526088

000015

110091999

DATE: 01-28-11

You may verify this certificate online at corp.delaware.gov/authver.shtml

DELAWARE

El Primer Estado

Yo, Jeffrey W. Bullock, Secretario de Estado del Estado de Delaware, certifico por medio del presente documento que "AMGEN INC.", está debidamente constituida según las leyes del Estado de Delaware y está a paz y salvo y tiene existencia corporativa legal hasta donde los registros de esta oficina lo muestran, a 28 de enero de 2011.

(Firmado) Jeffrey W. Bullock, Secretario de Estado

Sello: "Secretaría del Estado de Delaware – 1776 – 1970"

Autenticación: 8526088

Fecha: 28 de enero de 2011.

2106150 8300

110091999

Usted puede verificar este certificado por Internet en corp.delaware.gov/authver.shtml.

Como Notaria Once (E) del Circulo de Bogotá D.C. hago constar que ésta FOTOCOPIA coincide con su Original que he tenido a la vista

18 NOV 2011

Nelson J. Sánchez García
NOTARIO ONCE (E)
BOGOTA D.C.

000016

Traductor Oficial
JORGE E. SIERRA REYES
Licencia 376 - 1993 Minjusticia

Apostilla adjunta:

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES
2011 FEB 21 A 10:35
JEFE DE LEGALIZACIONES BOGOTA D.C.

APOSTILLA:
(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. País:	Estados Unidos de América
	El presente documento público
2. Ha sido firmado por:	Jeffrey W. Bullock
3. Actuando en calidad de:	Secretario del Estado de Delaware
4. Lleva el sello/estampilla de:	Secretario del Estado de Delaware
	Certificado
5. En:	Dover, Delaware
6. El:	Veintiocho de enero de 2011
7. Por:	Secretario del Estado, Departamento de Estado de Delaware.
8. Bajo el No.:	0433335
9. Sello / estampilla:	Oficina del Secretario de Estado – Delaware 1776 - 1970
10. Firma:	Secretario de Estado

COTEJADO CON EL DOCUMENTO QUE APARECE EN EL FOLIO 052186 DE LAS FUNCIONES INDICADAS.

NO SE ASUME RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

"FIN DE LA TRADUCCIÓN"

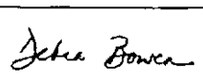
Certificación:
Certifico que la presente es una traducción auténtica y completa del inglés al español del documento adjunto, la cual he elaborado según mi leal saber y entender.
Documento: "Certificación Notarial"
Fecha: 17 de febrero de 2011
Traductor: Jorge Enrique Sierra Reyes (Sello y firma digital debidamente registrados ante el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia)
Licencia # 376 de 1993, expedida por el Ministerio de Justicia.
Dirección: Carrera 15 # 99-13 Of. 411, Bogotá, D.C.
Teléfonos: (571) 218 2308, (571) 623 2925.
E-mail: tresesier1@yahoo.com
Traducción # 15-961

Como Notario Once (E) del C. Municipio de Bogotá, D.C. hago constar que la(s) FOTOCOPIA coincide con su Original que he tenido a la vista
18 NOV 2011
000017
Nelson J. Sánchez García
NOTARIO ONCE (E)
BOGOTÁ-D.C.

Traductor Oficial
JORGE E. SIERRA REYES
Licencia 376 - 1993 Ministerio de Justicia

P-3133

State of California
Secretary of State

APOSTILLE (Convention de La Haye du 5 octobre 1961)			
1. Country: Pays / País:	United States of America		
This public document Le présent acte public / El presente documento público			
2. has been signed by a été signé par ha sido firmado por	*Karen E. Podgorny*		
3. acting in the capacity of agissant en qualité de quien actúa en calidad de	*Notary Public, State of California*		
4. bears the seal / stamp of est revêtu du sceau / timbre de y está revestido del sello / timbre de	*Karen E. Podgorny, Notary Public, State of California*		
Certified Attesté / Certificado			
5. at à / en	Sacramento, California	**6. the** le / el dia	*8th day of November 2011*
7. by par / por	Secretary of State, State of California		
8. N° sous n° bajo el número	*60628*		
9. Seal / stamp: Sceau / timbre: Sello / timbre:		**10. Signature:** Signature: Firma:	

This Apostille is the trilingual model Apostille Certificate as suggested by the Permanent Bureau and developed in response to the 2009 Special Commission on the practical operation of the Hague Apostille Convention.
This Apostille only certifies the authenticity of the signature and the capacity of the person who has signed the public document, and, where appropriate, the identity of the seal or stamp which the public document bears.
This Apostille does not certify the content of the document for which it was issued.
This Apostille is not valid for use anywhere within the United States of America, its territories or possessions.
To verify the issuance of this Apostille, see: www.sos.ca.gov/business/notary/apostille-search/.

Cette apostille est le modèle d'Apostille trilingue tel que suggéré par le Bureau Permanent et élaboré en réponse à la Commission spéciale de 2009 sur le fonctionnement pratique de la Convention de La Haye Apostille.
Cette Apostille atteste uniquement la véracité de la signature, la qualité en laquelle le signataire de l'acte a agi et, le cas échéant, l'identité du sceau ou timbre dont cet acte public est revêtu.
Cette Apostille ne certifie pas le contenu de l'acte pour lequel elle a été émise.
L'utilisation de cette Apostille n'est pas valable en / au États-Unis d'Amérique, ses territoires où possessions.
Cette Apostille peut être vérifiée à l'adresse suivante: www.sos.ca.gov/business/notary/apostille-search/.

Esta apostilla es el modelo trilingüe Certificado de Apostilla según lo sugerido por la Oficina Permanente y desarrollado en respuesta a la Comisión especial de 2009 sobre el funcionamiento práctico del Convenio de La Haya sobre Apostilla
Esta Apostilla certifica únicamente la autenticidad de la firma, la calidad en que el signatario del documento haya actuado y, en su caso, la identidad del sello o timbre del que el documento público esté revestido.
Esta Apostilla no certifica el contenido del documento para el cual se expidió.
No es válido el uso de esta Apostilla en Estados Unidos de América, sus territorios o posesiones.
Esta Apostilla se puede verificar en la dirección siguiente: www.sos.ca.gov/business/notary/apostille-search/.

000018



CORPORATE CERTIFICATE

State of California)
) SS:
County of Ventura)

I, Stuart L. Watt, am the person who signed the foregoing instrument as Vice President, Law, of Amgen Inc., and I hereby certify the following:

1. That Amgen is a corporation duly organized and legally existing under the laws of the State of Delaware and is domiciled at One Amgen Center Drive, Thousand Oaks, California 91320-1799 USA.

2. That I am its legitimate Vice President in accordance with the appointment issued in the City of Los Angeles, California on June 27, 2000, by the Board of Directors of said corporation, which was duly elected by the General Meeting of Stockholders held in Los Angeles, California on May 11, 2000, as evidenced by the minutes, which I have seen, and I have the competence of representing same, including faculties to grant powers.

3. That I am duly authorized to sign the foregoing instrument in the name of said corporation in accordance with my above-mentioned position and/or with a resolution of the Board of Directors of said corporation, which I have seen, taken on June 27, 2000, in the City of Los Angeles, California.

4. That the purposes for which said instrument is granted are within the scope of the objects or activities of said corporation, in accordance with the Act of Incorporation issued in the City of Dover, Delaware and dated October 31, 1986, and/or the Amended and Restated By-Laws issued in the City of Thousand Oaks, California and dated April 11, 1996, both of which I have seen.

Lynne Buchsbaum
Witness (Lynne Buchsbaum)

Deb Merrill
Witness (Deb Merrill)

Stuart L. Watt
Stuart L. Watt
Vice President, Law

000019

A-1429-Co-Pcz

State of California)
)
County of Ventura) SS:

On this 3 day of November, 2011, before me, Karen E. Podgorny, Notary Public, personally appeared Stuart L. Watt, Vice President, Law, who proved to me on the basis of satisfactory evidence to be the person whose name is subscribed to the within instrument and acknowledged to me that he/she executed the same in his/her authorized capacity, and that by his/her signature on the instrument the person, or the entity upon behalf of which the person acted, executed the instrument.

I certify under PENALTY OF PERJURY under the laws of the State of California that the foregoing paragraph is true and correct.

WITNESS my hand and official seal.

Witness my hand and seal.

Karen E. Podgorny
Notary Public

KAREN E. PODGORNY
Commission # 1906106
Notary Public - California
Ventura County
My Comm. Expires Oct 28, 2014

000020

SECRETARY

SLO-P-3133

JIMENA ESCOBAR URIBE
Traductor e Intérprete Oficial
Resolución No. 0369 Min. Justicia 199

Traducción oficial hecha por Jimena Escobar Uribe, traductora e intérprete oficial según resolución No. 0369 de 1995 del Ministerio de Justicia, del documento legalizado mediante la **APOSTILLA** No. **60628** de 8 de noviembre de 2011 expedida en Estados Unidos de América (Estado de California) correspondiente a un certificado de existencia de **AMGEN INC.,** domiciliada en Thousand Oaks, California, Estados Unidos de América.

CERTIFICADO CORPORATIVO

Estado de California
Condado de Ventura

Yo, Stuart L. Watt, soy la persona que firmó el instrumento anterior como Vicepresidente, Legal, de Amgen Inc., y por medio del presente certifico lo siguiente:

1. Que Amgen es una sociedad debidamente constituida y legalmente existente bajo las leyes del Estado de Delaware y está domiciliada en One Amgen Center Drive, Thousand Oaks, California 91320- 1799, Estados Unidos de América.

2. Que soy su Vicepresidente legítimo de acuerdo con el nombramiento expedido en la ciudad de Los Ángeles, California el 27 de junio de 2000, por la Junta Directiva de dicha sociedad, la cual fue debidamente elegida por la Asamblea General de Accionistas llevada a cabo en Los Ángeles, California el 11 de mayo de 2000, tal cual como se demuestra por las actas, las cuales he visto, y tengo la competencia para representar la misma, incluyendo facultades para otorgar poderes.

3. Que estoy debidamente autorizado para firma el instrumento anterior a nombre de dicha sociedad de acuerdo con mi cargo arriba mencionado y/o con una resolución de la Junta Directiva de dicha sociedad, la cual he visto, expedida el 27 de junio de 2000, en la ciudad de Los Ángeles, California.

000021

4. Que los fines para los cuales dicho instrumento es otorgado están dentro del ámbito de los objetos o actividades de dicha sociedad, de acuerdo con el Acta de Constitución expedida en la ciudad de Dover, Delaware y fechada el 31 de octubre de 1986, y/o los Estatutos Corregidos y Reexpedidos, expedidos en la ciudad de Thousand Oaks, California y fechados el 11 de abril de 1996, ambos de los cuales he visto.

Firmado: Stuart L. Watt, Vicepresidente, Legal
Firmado: Lynn Buchsbaum, Testigo
Firmado: Deb Merrill, Testigo

Estado de California
Condado de Ventura

Este día 3 de noviembre de 2011 ante mí Karen E. Podgorny, notario público, personalmente compareció Stuart L. Watt, Vicepresidente Legal, personalmente conocido por mí como la persona cuyo nombre está suscrito al instrumento anexo y reconoció ante mí que él ejecutó el mismo en su capacidad autorizada y que por su firma en el instrumento la persona o la entidad a cuyo nombre la persona actuó ejecutó el instrumento.

Certifico bajo la pena de perjurio bajo las leyes del Estado de California que el párrafo anterior es verdadero y correcto.

En testimonio mi firma y sello.
Firmado por Karen E. Podgorny, Notario Público
Sello: Karen E. Podgorny, comisión No. 1906106, notario público, California, Condado de Ventura, mi comisión termina el 28 de octubre de 2014

****

Estado de California
Secretario de Estado

000022

JIMENA ESCOBAR URIBE
Traductor e Intérprete Oficial
Resolución No. 0369 Min. Justicia 1995

Esta Apostilla únicamente certifica la autenticidad de la firma y el título del oficial que ha firmado el documento público y, cuando sea apropiado, la identidad del sello o estampilla que lleva el documento público. Esta Apostilla no certifica la autenticidad del documento para el cual fue expedida. Esta Apostilla no es válida para uso en ningún lugar dentro de los Estados Unidos, sus territorios o posesiones. Para verificar la expedición de esta Apostilla vaya a www.sos.ca.gov/business/notary/apostille-search/

APOSTILLA

(Convención de la Haya de 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
   Este documento público
2. ha sido firmado por Karen E. Podgorny
3. actuando en su calidad de Notario Público, Estado de California
4. lleva el sello/estampilla de Karen E. Podgorny, Notario Público, Estado de California

CERTIFICADO

5. En Sacramento, California
6. El 8 de noviembre de 2011
7. Por Diputado Secretario de Estado, Estado de California
8. NO. 60628
9. Sello/Estampilla: Sello del Estado de California
10. Firma: ilegible, Secretario de Estado

Por: Firma ilegible

Sello de la Secretaría de Estado

000023

MUTANTES FGF21 Y USOS DE LOS MISMOS

CAMPO DE LA INVENCIÓN

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

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

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

El FGF21 se aisló de una biblioteca de ADNc del hígado como un factor secretado hepático. Se expresa altamente en el hígado y el páncreas y es el único miembro de la familia FGF que se expresa principalmente en el hígado. Ratones transgénicos que sobreexpresan FGF21 exhiben fenotipos metabólicos de tasa de crecimiento lento, glucosa baja en el plasma y niveles de triglicéridos, y una ausencia de diabetes tipo 2 diabetes asociada con la edad, hiperplasia de los islotes, y obesidad. La administración farmacológica de la proteína FGF21 recombinante en modelos de roedor y primate da por resultado niveles normalizados de glucosa en el, niveles de triglicéridos y colesterol

reducidos, y tolerancia a la glucosa mejorada y sensibilidad a la insulina. Además, el FGF21 reduce el peso corporal y la grasa corporal al incrementar el gasto de energía, actividad física y tasa metabólica. La investigación experimental proporciona apoyo para la administración farmacológica del FGF21 para el tratamiento de la diabetes tipo 2, obesidad, dislipidemia y otras condiciones o trastornos metabólicos en humanos.

El FGF21 humano tiene una vida media corta *in vivo*. En los ratones, la vida media del FGF21 humano es de 1 a 2 horas, y en monos cynomolgus, la vida media es de 2.5 a 3 horas. En el desarrollo de una proteína FGF21 para el uso como un agente terapéutico en el tratamiento de la diabetes tipo 2, sería deseable un incremento en la vida media. Las proteínas FGF21 que tienen una vida media mejorada permitirían una dosificación menos frecuente a los pacientes que se les administra la proteína. Estas proteínas se describen en este documento.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

Se describe un polipéptido aislado que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 y que comprende además: (a) al menos una sustitución de aminoácidos en la posición 180; y (b) al menos una sustitución de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste de: (i) una sustitución en la posición 171; y (ii) una sustitución en la posición 98; y (c) combinaciones de los mismos.

En una modalidad el polipéptido aislado comprende una sustitución en la posición 98 y una sustitución en la posición 180 y en donde: (a) la sustitución en la posición 98 se

selecciona del grupo que consiste de una arginina, cisteína, ácido glutámico, glutamina, lisina, y treonina; y (b) la sustitución en la posición 180 se selecciona del grupo que consiste de glicina, prolina, serina o ácido glutámico; y (c) combinaciones de los mismos. En una modalidad el residuo en la posición 98 es arginina y el residuo en la posición 180 es ácido glutámico. También se proporciona un polipéptido de fusión que comprende el polipéptido aislado fusionado a una secuencia de aminoácidos heteróloga. En una modalidad la secuencia de aminoácidos heteróloga es un dominio Fc o fragmento de la misma, y puede comprender la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11. En otra modalidad el polipéptido se fusiona al dominio Fc por medio de una ligadura y aún en otra modalidad la ligadura comprende GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 31). En una modalidad específica el polipéptido comprende SEQ ID NO: 47. También se describe un multímero que comprende dos o más de los polipéptidos de fusión. También se describe una composición farmacéutica que comprende el polipéptido aislado y un agente de formulación farmacéuticamente aceptable, tal como un hidrogel. En otro aspecto, se proporciona un método para tratar un trastorno metabólico y en una modalidad comprende administrar a un paciente humano que necesita del mismo una composición farmacéutica proporcionada en la presente. En una modalidad el trastorno metabólico es diabetes y en otra el trastorno metabólico es obesidad. Los ácidos nucleicos que codifican el polipéptido aislado también se proporcionan y en una modalidad el ácido nucleico comprende SEQ ID NO: 46. El ácido nucleico puede estar presente en un vector, que puede por sí mismo estar presente en

una célula hospedera. Todavía en otra modalidad el polipéptido comprende: (a) un truncamiento amino-terminal de no más de 8 residuos de aminoácido, en donde el polipéptido es capaz de disminuir la glucosa en la sangre en un mamífero; (b) un truncamiento carboxilo-terminal de no más de 12 residuos de aminoácido, en donde el polipéptido es capaz de disminuir la glucosa en la sangre en un mamífero; o (c) un truncamiento amino-terminal de no más de 8 residuos de aminoácido y un truncamiento carboxilo-terminal de no más de 12 residuos de aminoácido, en donde el polipéptido es capaz de disminuir la glucosa en la sangre en un mamífero. Todavía en otras modalidades el polipéptido está covalentemente ligado a uno o más polímeros, tal como PEG.

En otra modalidad el polipéptido aislado comprende una sustitución en la posición 171 y una sustitución en la posición 180 y en donde: (a) la sustitución en la posición 180 se selecciona del grupo que consiste de glicina, prolina, serina y ácido glutámico; (b) la sustitución en la posición 171 se selecciona del grupo que consiste de una alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, lisina, serina, treonina, triptofano, y tirosina; y (c) combinaciones de los mismos. En una modalidad el residuo en la posición 171 es glicina y el residuo en la posición 180 es ácido glutámico. También se proporciona un polipéptido de fusión que comprende el polipéptido aislado fusionado a una secuencia de aminoácidos heteróloga. En una modalidad la secuencia de aminoácidos heteróloga es un dominio Fc o fragmento del mismo, y puede comprender la secuencia

de aminoácidos de SEQ ID NO: 11. En otra modalidad el polipéptido se fusiona al dominio Fc por medio de una ligadura y aún en otra modalidad la ligadura comprende GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 31). En una modalidad específica el polipéptido comprende SEQ ID NO:47. También se describe un multímero que comprende dos o más de los polipéptidos de fusión. Una composición farmacéutica que comprende el polipéptido aislado y un agente de formulación farmacéuticamente aceptable, tal como un hidrogel, también se describe. En otro aspecto, se proporciona un método para tratar un trastorno metabólico y en una modalidad comprende administrar a un paciente humano en necesidad del mismo una composición farmacéutica proporciona en la presente. En una modalidad el trastorno metabólico es diabetes y en otra el trastorno metabólico es obesidad.

Los ácidos nucleicos que codifican los polipéptidos aislados también se proporcionan y en una modalidad el ácido nucleico comprende SEQ ID NO: 46. El ácido nucleico puede presentarse en un vector, que puede por sí mismo estar presente en una célula hospedera. Todavía en otra modalidad el polipéptido comprende: (a) un truncamiento amino-terminal de no más de 8 residuos de aminoácido, en donde el polipéptido es capaz de disminuir la glucosa en la sangre en un mamífero; (b) un truncamiento carboxilo-terminal de no más de 12 residuos de aminoácido, en donde el polipéptido es capaz de disminuir la glucosa en la sangre en un mamífero; o (c) un truncamiento amino-terminal de no más de 8 residuos de aminoácido y un truncamiento carboxilo-terminal de no más de 12 residuos de aminoácido, en donde el polipéptido es capaz de disminuir la glucosa

sangre en un mamífero. Todavía en otras modalidades el polipéptido está covalentemente ligado a uno o más polímeros, tal como PEG.

Aún en otra modalidad el polipéptido comprende una sustitución en la posición 98, una sustitución en la posición 171 y una sustitución en la posición 180 de SEQ ID NO: 4 y en donde: (a) la sustitución en la posición 171 se selecciona del grupo que consiste de alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, lisina, serina, treonina, triptofano, o tirosina; (b) la sustitución en la posición 98 se selecciona del grupo que consiste de arginina, cisteína, ácido glutámico, glutamina, lisina, o treonina; y (c) la sustitución en la posición 180 se selecciona del grupo que consiste de glicina, prolina, serina o acid glutámico; y combinaciones de los mismos.

En una modalidad adicional el residuo en la posición 98 es arginina, el residuo en la posición 171 es glicina y el residuo en la posición 180 es un ácido glutámico. También se proporciona un polipéptido de fusión que comprende el polipéptido aislado fusionado a una secuencia de aminoácidos heteróloga. En una modalidad la secuencia de aminoácidos heteróloga es un dominio Fc o fragment de la misma, y puede comprender la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11. En otra modalidad el polipéptido se fusiona al dominio Fc por medio de una ligadura y aún en otra modalidad la ligadura comprende GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 31). En una modalidad específica el polipéptido comprende SEQ ID NO: 47. También se describe un multímero que comprende dos o más de los polipéptidos de fusión. Una composición

farmacéutica comprende el polipéptido aislado y un agente de formulación farmacéuticamente aceptable, tal como un hidrogel, también se describe. En otro aspecto, se proporciona un método para tratar un trastorno metabólico y en una modalidad comprende administrar a un paciente humano que necesita del mismo una composición proporciona en la presente. En una modalidad el trastorno metabólico es diabetes y en otra el trastorno metabólico es obesidad. Los ácidos nucleicos que codifican el polipéptido aislado también se proporcionan y en una modalidad el ácido nucleico comprende SEQ ID NO: 46. El ácido nucleico puede estar presente en un vector, que puede por sí mismo presentarse en una célula hospedera. Todavía en otra modalidad el polipéptido comprende: (a) un truncamiento amino-terminal de no más de 8 residuos de aminoácido, en donde el polipéptido es capaz de disminuir la glucosa en la sangre en un mamífero; (b) un truncamiento carboxilo-terminal de no más de 12 residuos de aminoácido, en donde el polipéptido es capaz de disminuir la glucosa en la sangre en un mamífero; o (c) un truncamiento amino-terminal de no más de 8 residuos de aminoácido y un truncamiento carboxilo-terminal de no más de 12 residuos de aminoácido, en donde el polipéptido es capaz de disminuir la glucosa en la sangre en un mamífero.

Todavía en otras modalidades el polipéptido está covalentemente ligado a uno o más polímeros, tales como PEG.

Modalidades específicas de la invención llegarán a ser evidentes a partir de la siguiente descripción más detallada de ciertas modalidades y las reivindicaciones.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

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

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

La Figura 3 muestra los niveles de glucosa en la sangre medidos en ratones inyectados con PBS (barra sólida), control FGF21 humano (barra abierta), o los mutantes de truncamiento FGF21 8-181 (barra gris) y 9-181 (barra punteada).

La Figura 4 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucosa en la sangre medido en ratones inyectados con PBS (círculos sólidos), un control Fc-FGF21 (WT) (círculos abiertos), o proteínas de fusión Fc-FGF21 truncadas que comprenden los residuos de aminoácido 5-181 (triángulos sólidos) o 7-181 (triángulos abiertos).

La Figura 5 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucosa en la sangre medido en ratones inyectados con PBS (círculos sólidos), un control FGF21-Fc (WT) (círculos abiertos), una proteína de fusión FGF21-Fc truncada que comprende los residuos 1-175 (triángulos sólidos), o una proteína Fc-FGF21 truncada que comprende los residuos de aminoácido 1-171

(triángulos abiertos).

Las Figuras 6A-6D muestran los resultados del análisis de cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC-MS) de una muestra de control Fc-(G5)-FGF21 humano (SEQ ID NO: 107) (Figura 6A) y muestras de Fc-(G5)-FGF21 extraídas de ratones a 6 horas (Muestra D6; Figura 6B), 24 horas (Muestra D24; Figura 6C), y 48 horas (Muestra D48; Figura 6D) después de la inyección.

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

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

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

Las Figuras 10A-10B muestran los sitios de escisión identificados por el análisis LC-MS de las proteínas de fusión Fc-(L15)-FGF21 (Figura 10A, SEQ ID NO: 49) y FGF21-(L15)-Fc (Figura 10B, SEQ ID NO: 41) inyectadas en los ratones.

La Figura 11 muestra los niveles de glucosa en

sangre medidos en ratones inyectados con PBS (barra sólida), Fc-(L15)-FGF21 (SEQ ID NO: 49) (barra abierta), o los mutantes Fc-(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO: 51) (barra gris), Fc-(L15)-FGF21 P171A (SEQ ID NO: 53) (barra punteada), Fc-(L15)-FGF21 S172L (SEQ ID NO: 55) (barra diagonalmente sombreada abierta), Fc-(L15)-FGF21(G170E, P171A, S172L) (SEQ ID NO: 59) (barra horizontalmente sombreada sólida), o Fc-(L15)-FGF21 G151A (SEQ ID NO: 61) (barra diagonalmente sombreada abierta).

La Figura 12 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucosa en la sangre medido en ratones inyectados con PBS (círculos sólidos), Fc-(L15)-FGF21 (SEQ ID NO: 49) (círculos abiertos), o los mutantes Fc-(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO: 51) (triángulos sólidos), Fc-(L15)-FGF21 P171A (SEQ ID NO: 53) (triángulos abiertos), Fc-(L15)-FGF21 S172L (SEQ ID NO: 55) (diamantes sólidos), Fc-(L15)-FGF21(G170E, P171A, S172L) (SEQ ID NO: 59) (diamantes abiertos), o Fc-(L15)-FGF21 G151A (SEQ ID NO: 61) (cuadros sólidos).

La Figura 13 muestra los niveles de glucosa en la sangre medidos en ratones con PBS (barra sólida), Fc-(L15)-FGF21 (SEQ ID NO: 49) (barra abierta), o los mutantes Fc-(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21(P150A, G151A, I152V) (barra gris), Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO: 51) (barra diagonalmente sombreada abierta), Fc-(L15)-FGF21(G170E, P171A) (SEQ ID NO: 63) (barra diagonalmente sombreada gris), o Fc-(L15)-FGF21(G170E, S172L) (SEQ ID NO: 67) (barra diagonalmente sombreada abierta).

La Figura 14 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucosa en la sangre medidos en ratones inyectados con PBS (cuadros sólidos), Fc-(L15)-FGF21 (SEQ ID NO: 49) (cuadros

abiertos), o los mutantes Fc-(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21(P150A, G151A, I152V) (SEQ ID NO: 65) (triángulos invertidos sólidos), Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO: 51) (triángulos invertidos abiertos), Fc-(L15)-FGF21(G170E, P171A) (SEQ ID NO: 63) (círculos sólidos), o Fc-(L15)-FGF21(G170E, S172L) (SEQ ID NO: 67) (círculos abiertos).

La Figura 15 muestra los niveles de glucosa en la sangre medidos en ratones inyectados con PBS (barra sólida) o los mutantes Fc-(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO: 51) (barra abierta), Fc-(L15)-FGF21 G170A (SEQ ID NO: 69) (barra gris), Fc-(L15)-FGF21 G170C (SEQ ID NO: 71) (barra sombreada abierta), Fc-(L15)-FGF21 G170D (SEQ ID NO: 73) (barra gris y blanca), Fc-(L15)-FGF21 G170N (SEQ ID NO: 75) (barra sombreada sólida), o Fc-(L15)-FGF21 G170S (SEQ ID NO: 77) (barra sombreada abierta).

La Figura 16 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucosa en la sangre medido en ratones inyectados con PBS (círculos sólidos) o los mutantes Fc-(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO: 51) (círculos abiertos), Fc-(L15)-FGF21 G170A (SEQ ID NO: 69) (triángulos sólidos), Fc-(L15)-FGF21 G170C (SEQ ID NO: 71) (triángulos abiertos), Fc-(L15)-FGF21 G170D (SEQ ID NO: 73) (diamantes sólidos), Fc-(L15)-FGF21 G170N (SEQ ID NO: 75) (diamantes abiertos), o Fc-(L15)-FGF21 G170S (SEQ ID NO: 77) (triángulos invertidos sólidos).

La Figura 17 muestra los niveles de glucosa en la sangre medidos en ratones inyectados con PBS (barra sólida) o los mutantes Fc-(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO: 51) (barra abierta), Fc-(L15)-FGF21 P171E (SEQ ID NO: 79) (barra

gris), Fc-(L15)-FGF21 P171H (SEQ ID NO: 81) (barra sombreada sólida), Fc-(L15)-FGF21 P171Q (SEQ ID NO: 83) (barra sombreada abierta), Fc-(L15)-FGF21 P171T (SEQ ID NO: 85) (barra punteada), o Fc-(L15)-FGF21 P171Y (SEQ ID NO: 87) (barra sombreada gris).

La Figura 18 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucosa en la sangre medido en ratones inyectados con PBS (círculos sólidos) o los mutantes Fc-(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO: 51) (círculos abiertos), Fc-(L15)-FGF21 P171E (SEQ ID NO: 79) (triángulos sólidos), Fc-(L15)-FGF21 P171H (SEQ ID NO: 81) (triángulos abiertos), Fc-(L15)-FGF21 P171Q (SEQ ID NO: 83) (diamantes sólidos), Fc-(L15)-FGF21 P171T (SEQ ID NO: 85) (diamantes abiertos), o Fc-(L15)-FGF21 P171Y (SEQ ID NO: 87) (cuadros sólidos).

Las Figuras 19A-19D muestran los resultados del análisis LC-MS de la muestra de control Fc-(L15)-FGF21 (Figura 19A, SEQ ID NO: 49) y las muestras extraídas de ratones en el tiempo de 6 horas (Figura 19B), 24 horas (Figura 19C), y 48 horas (Figura 19D) después de la inyección.

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

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

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

Las Figuras 23A-23D muestran los sitios de escisión identificados por el análisis LC-MS de las proteínas de fusión Fc-(L15)-FGF21 (Figura 23 A, SEQ ID NO: 49), Fc-(L15)-FGF21 G170E (Figura 23B, SEQ ID NO: 51), Fc-(L15)-FGF21 P171A (Figura 23C, SEQ ID NO: 53), y Fc-(L15)-FGF21 S172L (Figura 23D, SEQ ID NO: 55) inyectadas en ratones.

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

Las Figuras 25A-25D muestran los resultados de un ensayo de actividad de ELK-luciferasa realizado sobre los mutantes Fc-(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21 P171G (SEQ ID NO: 89), Fc-(L15)-FGF21 P171S (SEQ ID NO: 91), y Fc-(L15)-FGF21 P171T (SEQ ID NO: 85) (Figura 25A); los mutantes Fc-(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21 P171Y (SEQ ID NO: 87), Fc-(L15)-FGF21 P171W (SEQ ID NO: 93) y Fc-(L15)-FGF21 P171C (SEQ ID NO: 95) (Figura 25B); Fc-(L15)-FGF21 (SEQ ID NO: 49), Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E) (SEQ ID NO: 97),

FGF21 A45K (SEQ ID NO: 99) (Figura 25C); y Fc-(L15)-FGF21 (SEQ ID NO: 49), Fc-(L15)-FGF21 P171E (SEQ ID NO: 79), y Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E) (SEQ ID NO: 97) (Figura 25D); cada panel muestra los resultados obtenidos para un control FGF21 humano.

Las Figuras 26A-26B muestran la agregación como una función de tiempo para el FGF21 maduro de tipo silvestre y varios mutantes FGF21; la Figura 26A muestra el cambio en el porcentaje de agregación para un control FGF21 (WT, diamantes sólidos) y FGF21 A45K (círculos sólidos) después de la incubación de 65 mg/mL de proteína a 4°C durante 1, 2, y 4 días, mientras que la Figura 26B muestra el cambio en el porcentaje de agregación para un control FGF21 control (WT) (SEQ ID NO: 4) y FGF21 P78C (SEQ ID NO: 127), FGF21 P78R (SEQ ID NO: 129), FGF21 L86T (SEQ ID NO: 131), FGF21 L86C (SEQ ID NO: 133), FGF21 L98C (SEQ ID NO: 135), FGF21 L98R (SEQ ID NO: 137), FGF21 A111T (SEQ ID NO: 113), FGF21 A129D (SEQ ID NO: 115), FGF21 A129Q (SEQ ID NO: 117), FGF21 A129K (SEQ ID NO: 125), FGF21 A134K (SEQ ID NO: 119), FGF21 A134Y (SEQ ID NO: 121, y FGF21 A134E (SEQ ID NO: 123) (todos etiquetados en la gráfica) después de la incubación de 65 mg/mL de proteína a 4°C durante 1, 6, y 10 días.

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

La Figura 28A es una gráfica que muestra el cambio en los niveles de agregación para los mutantes Fc-(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21(6-181, G170E) (SEQ ID NO: 101) (diamantes sólidos), Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E) (SEQ ID NO: 97) (cuadros abiertos),

Fc-(L15)-FGF21 P171E (SEQ ID NO: 79) (triángulos sólidos), Fc-(L15)-FGF21 P171A (SEQ ID NO: 53) (cruces), Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO: 51) (triángulos abiertos), y un control FGF21 (círculos sólidos) después de la incubación a 4°C durante 1, 4, y 8 días, y la Figura 28B es una gráfica de barras que muestra también los resultados de la incubación.

La Figura 29 muestra los niveles de glucosa en la sangre medidos en ratones inyectados con PBS (vehículo) (círculos sólidos) o los mutantes Fc-(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E) (SEQ ID NO: 97) (círculos abiertos), Fc-(L15)-FGF21 (A45K, P171G) (SEQ ID NO: 103) (triángulos sólidos), o Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) (triángulos abiertos).

La Figura 30 es una gráfica que muestra los resultados de un ensayo de actividad de ELK-luciferasa realizado en FGF21 humano (círculos sólidos, línea sólida), Fc-(L15)-FGF21 (SEQ ID NO: 49) (círculos abiertos, línea sólida) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) (triángulos sólidos, línea punteada).

La Figura 31 es una gráfica que muestra el porcentaje de agregados de peso molecular alto observados después de nueve días a temperatura ambiente (Figura 31A) y a 4°C (Figura 31B) para FGF21 (SEQ ID NO: 4) (círculos sólidos, línea sólida), Fc-(L15)-FGF21 (SEQ ID NO: 49) (círculo abierto, línea sólida) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) (triángulos sólidos, línea punteada).

La Figura 32 es una serie de trazas de espectrometría de masas MALDI que muestran cambios observados en Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) en varios puntos durante un período de tiempo de 168 horas.

La Figura 33 es una gráfica que muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucosa en la sangre en ratones ob/ob para cada uno de un control de vehículo PBS control (círculos abiertos), FGF21 maduro de tipo silvestre (cuadros sólidos), y los mutantes FGF21 Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) (triángulos sólidos invertidos); Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182P) (SEQ ID NO: 143) (diamantes abiertos), y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182G) (SEQ ID NO: 145) (círculos sólidos).

La Figura 34 es una gráfica que muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucosa en la sangre en ratones ob/ob para cada uno de un control de vehículo PBS (círculos sólidos), y los mutantes FGF21 Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) (triángulos sólidos); Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182G, 183G) (SEQ ID NO: 147) (triángulos abiertos), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182G) (SEQ ID NO: 145) (diamantes sólidos) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182P) (SEQ ID NO: 143) (diamantes abiertos).

La Figura 35 es una gráfica que muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucosa en la sangre en ratones ob/ob para cada uno de un control de vehículo PBS (círculos abiertos), y los mutantes FGF21 Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) (cuadros sólidos); Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, Y179S) (SEQ ID NO: 149) (triángulos abiertos), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, Y179A) (SEQ ID NO: 153) (triángulos sólidos invertidos), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180S) (SEQ ID NO: 155) (diamantes abiertos) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180G) (SEQ ID NO: 157) (círculos sólidos).

La Figura 36 es una gráfica que muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucosa en la sangre en ratones db/db

para cada uno de un control de vehículo PBS (círculos sólidos), y los mutantes FGF21 Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) (cuadros abiertos); Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, Y179F) (SEQ ID NO: 151) (triángulos sólidos), y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 57) (diamantes abiertos).

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

Las Figuras 38A-38D es una serie de gráficas que representan como los monos *rhesus* se aleatorizaron en perfiles OGTT, OGTT AUCs y peso corporal; la Figura 38A representa los niveles de glucosa de línea base en OGTT1, el cuadro sólido corresponde al grupo A, círculo sólido, línea sólida corresponde al grupo B y círculo abierto, línea punteada corresponde al grupo C antes de que los compuestos o vehículos se asignarán a cada grupo; la Figura 38B representa los niveles de glucosa de línea base en OGTT2, el cuadro sólido corresponde al grupo A, el círculo sólido, línea sólida corresponde al grupo B y el círculo abierto, línea sólida corresponde al grupo C antes de que los compuestos o vehículos se asignaran a cada grupo; la Figura 38C muestra los niveles de glucosa de línea base para las OGTTs 1 y 2 mostrados en términos de AUC, la barra punteada corresponde al grupo A, la barra sombreada corresponde al grupo B y la barra abierta corresponde al grupo C; y la Figura 38D muestra el peso corporal de línea base, la barra punteada corresponde al grupo A

la barra sombreada corresponde al B y la barra abierta corresponde al grupo C.

La Figura 39 es una gráfica que muestra el cambio en porcentaje en peso corporal con relación a la línea basal del vehículo, FGF21 (SEQ ID NO: 4) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) en los monos *Rhesus;* las barras sombreadas 1 y 2 corresponden a las semanas 1 y 2 en la dosis baja, las barras abiertas 3 y 4 corresponden a las semanas 3 y 4 en la dosis media, las barras sólidas 5 y 6 corresponden a la semana 5 y 6 en la dosis alta y las barras punteadas 7, 8 y 9 corresponden a las semanas 7-9 durante el período de lavado.

La Figura 40 es una gráfica que muestra el porcentaje de cambio en la insulina en ayunas relativa con la línea base del vehículo, FGF21 (SEQ ID NO: 4) y Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) en los niveles de insulina en ayunas en monos *Rhesus;* las barras sombreadas 1 y 2 corresponden a la semana 1 y 2 en la dosis baja, las barras abiertas 3 y 4 corresponden a la semana 3 y 4 en la dosis media, las barras sólidas 5 y 6 corresponden a las semanas 5 y 6 en la dosis alta y las barras punteadas 7 y 8 corresponden a las semanas 7 y 8 durante el período de lavado.

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

La Figura 42 es una gráfica que muestra los perfiles de glucosa de OGTT5 realizados al final del tratamiento de dosis

alta de dos semanas con Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43); círculo sólido, línea sólida corresponden al vehículo, cuadro abierto, línea punteada corresponde a FGF21 y triángulo sólido, línea sólida corresponde a Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43).

La Figura 43 es una gráfica que muestra los perfiles de insulina de OGTT5 realizados al final del tratamiento de dosis alta de dos semanas con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43); círculo sólido, línea sólida corresponde al vehículo, cuadro abierto, línea punteada corresponde a FGF21 y triángulo sólido, línea sólida corresponde a Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43).

La Figura 44 es una gráfica que muestra el cambio en porcentaje de la línea basal de AUC3-5 de la glucosa OGTT determinada al final de cada período de dosis (dosis baja, media y alta) de los monos *Rhesus;* barras abiertas corresponden a AUC3 calculada de las mediciones de glucosa durante OGTT3, barras sólidas corresponden a AUC4 calculada de las mediciones de glucosa durante OGTT4 y barras sombreadas corresponden a la AUC5 calculada de las mediciones de glucosa durante OGTT5.

La Figura 45 es una gráfica que muestra los efectos del vehículo, FGF21 y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) en el porcentaje de cambio de la línea base de los niveles de triglicéridos en plasma en ayunas de cada grupo de monos *Rhesus;* barras sombreadas 1 y 2 corresponden a las semanas 1 y 2 en la dosis baja, barras abiertas 3 y 4 corresponden a las semanas 3 y 4 en la dosis media, barra sólidas 5 y 6 corresponden a las semanas 5 y 6 en la dosis alta y barras punteadas 7, 8 y 9

corresponden a las semanas 7-9 durante el período de lavado.

La Figura 46 es una gráfica que muestra los niveles de triglicéridos en el plasma en estado alimentado de cada grupo de los monos *Rhesus*; como es medido durante la quinta y sexta semana del tratamiento con el vehículo, FGF21 o Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) en la dosis alta; barras sombreadas corresponden a la semana 5 y barras sólidas corresponden la semana 6.

La Figura 47 es una gráfica que muestra los niveles FGF21 humano en monos individuales medidos en pre-dosis, y 5, 12, 19, y 26 días, con las muestras adquiridas a aproximadamente 21 horas después de cada inyección.

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

La Figura 49 es una gráfica que muestra concentraciones medias de niveles FGF21 y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) medidos de tres OGTTs realizados después de cada una de las dosis baja, medias y altas; barra sombreadas corresponden a OGTT3 en la dosis baja, barras sólidas corresponden a OGTT4 en la dosis media y barras abierta corresponden a OGTT5 en la dosis alta.

La Figura 50 es la secuencia de aminoácidos de la proteína de fusión Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:47); los residuos Fc IgG1 (SEQ ID NO:11) están en negritas, la ligadura (G4S)3 (SEQ ID NO:31) está en cursiva y las mutaciones de punto en la secuencia FGF21 (SEQ ID NO:39) están en negrita y

subrayadas.

La Figura 51 es una gráfica que muestra la respuesta en dosis de los compuestos probados en ensayos de Erk-luciferasa; se probaron Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:47), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:57), FGF21 tipo natural, y una fusión Fc con FGF21 de tipo natural.

La Figura 52 es una gráfica que muestra los resultados de un ensayo de enlace en equilibrio de solución Biacore de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 47) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) para humano (derecha) y cyno β-Klotho (izquierda).

La Figura 53 es un par de gráficas que muestran la respuesta en dosis de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 47) en ratones db/db después de una inyección sencilla; la Figura 53A muestra los niveles de glucosa en la sangre en ratones db/db en varios puntos de tiempo seguido por vehículo o inyección Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E), mientras que la Figura 53B muestra el efecto de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) en peso corporal después de una inyección sencilla en ratones db/db.

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

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

La Figura 56 es una gráfica que muestra el cambio de

peso corporal de la línea basal (día 0) en ratones tratados con vehículo, Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 47) o Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) en diferentes frecuencias de dosificación.

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

La Figura 58 es una gráfica que muestra el efecto en el nivel de glucosa en la sangre de ratones db/db de 8 semanas dosificados con varias formulaciones de hidrogel.

La Figura 59 es una gráfica que muestra el efecto en el nivel de glucosa en la sangre de ratones db/db de 8 semanas de edad dosificados con varias formulaciones de hidrogel.

La Figura 60 es una gráfica que muestra el efecto en el nivel de glucosa en la sangre de ratones db/B6 de 8 semanas de edad dosificados con varias formulaciones de hidrogel; los círculos sólidos representan un ratón dosificado con un control de hidrogel, los cuadros sólidos representan ratones dosificados con FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 37) en un hidrogel en 10 mg/kg, los triángulos sólidos representan ratones dosificados con FGF21 (L98R, P171G) en un hidrogel a 30 mg/kg, y los triángulos invertidos representan ratones dosificados con solo Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 57).

La Figura 61 es una gráfica que muestra el cambio de porcentaje en el nivel de glucosa en la sangre de ratones db/B6 de 8 semanas de edad dosificados con varias formulaciones de hidrogel; los círculos sólidos representan un ratón dosificado con un control de hidrogel, los cuadros sólidos representan

ratones dosificados con FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 37) en un hidrogel en 10 mg/kg, los triángulos sólidos representan ratones dosificados con FGF21 (L98R, P171G) en un hidrogel en 30 mg/kg, y los triángulos invertidos representan ratones dosificados con solo Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 57).

La Figura 62 es una gráfica que muestra el efecto en el peso corporal de ratones db/B6 de 8 semanas de edad dosificados con varias formulaciones de hidrogel; los círculos sólidos representan un ratón dosificado con un control de hidrogel, los cuadros sólidos representan ratones dosificados con FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 37) en un hidrogel en 10 mg/kg, los triángulos sólidos representan ratones dosificados con FGF21 (L98R, P171G) en un hidrogel en 30 mg/kg, y los triángulos invertidos representan ratones dosificados con solo Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 57).

La Figura 63 es una gráfica que muestra el cambio de porcentaje en peso de ratones db/B6 de 8 semanas de edad dosificados con varias formulaciones de hidrogel; los círculos sólidos representan un ratón dosificado con un control de hidrogel, los cuadros sólidos representan ratones dosificados con FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:37) en un hidrogel en 10 mg/kg, los triángulos sólidos representan ratones dosificados con FGF21 (L98R, P171G) en un hidrogel en 30 mg/kg, y los triángulos invertidos representan ratones dosificados con solo Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:57).

La Figura 64 es un diagrama que describe gráficamente el diseño de estudio para un estudio a escala de dosis de nueve semanas realizado en monos *cynomolgus* con tolerancia a la glucosa

mejorada (IGT).

La Figura 65 es una gráfica que describe los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 47) en ingesta de alimento de carne AM de los monos *cynomolgus* IGT estudiados.

La Figura 66 es una gráfica que representa los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 47) en ingesta de fruta de los monos *cynomolgus* IGT estudiados.

La Figura 67 es una gráfica que representa los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 47) en ingesta de alimento de carne PM de los monos *cynomolgus* IGT estudiados.

La Figura 68 es una gráfica que representa los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 47) en peso corporal de los monos *cynomolgus* IGT estudiados.

La Figura 69 es una gráfica que muestra los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:47) en índice de masa corporal de los monos *cynomolgus* IGT estudiados.

La Figura 70 es una gráfica que muestra los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 47) en el grosor de pliegue de la piel de los monos *cynomolgus* IGT estudiados.

La Figura 71 es una gráfica que muestra los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 47) en la

circunferencia abdominal de los monos *cynomolgus* IGT estudiados.

La Figura 72 es una gráfica que muestra los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO:47) en niveles de glucosa en el plasma de los monos *cynomolgus* IGT estudiados.

La Figura 73 es una gráfica que muestra los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 47) en tolerancia a la glucosa de los monos *cynomolgus* IGT estudiados.

La Figura 74 es una gráfica que muestra los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 47) en niveles de triglicéridos en el plasma de los monos *cynomolgus* IGT estudiados.

La Figura 75 es una gráfica que muestra los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 47) en niveles de colesterol totales en el plasma de los monos *cynomolgus* IGT estudiados.

La Figura 76 es una gráfica que muestra los efectos del vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 47) en niveles de colesterol HDL en el plasma de los monos *cynomolgus* IGT estudiados.

La Figura 77 es una serie de rastros de espectrometría de masa MALDI que muestra cambios observados en Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (panel izquierdo, SEQ ID NO: 43) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (panel derecho, SEQ ID NO: 57) en ambos

puntos durante un periodo de tiempo de 168 horas.

La Figura 78 es una gráfica que muestra la abundancia relativa (%) del péptido de terminal C de longitud completa sobre los fragmentos de péptido de terminal C totales derivados de tanto Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) como Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) como se analiza por MRM CL/EM/EM seguido por digestión Asp-N.

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

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

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Una proteína FGF21 humana que tiene propiedades mejoradas tal como una vida media incrementada y/o agregación disminuida se puede preparar usando los métodos dados a conocer en este documento y métodos de biología molecular estándares. Opcionalmente, la vida media se puede prolongar adicionalmente al fusionar un anticuerpo, o porción del mismo, al extremo N-terminal o C-terminal de la secuencia FGF21 de tipo silvestre. También es posible prolongar adicionalmente la vida media o

disminuir la agregación de la proteína FGF21 de tipo silvestre al introducir sustituciones de aminoácidos dentro de la proteína. Estas proteínas modificadas son referidas en este documento como mutantes, o mutantes FGF21 y forman modalidades de la presente invención.

Los métodos de ácido nucleicos recombinantes usados en este documento, incluyendo en los ejemplos, son generalmente aquellos expuestos por Sambrook *y colaboradores, Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) or *Current Protocols in Molecular Biology* (Ausubel *y colaboradores*, eds., Green Publishers Inc. y Wiley y Sons 1994), ambas de las cuales se incorporan en este documento a manera de referencia para cualquier propósito.

1. Definiciones Generales

El término "molécula de ácido nucleico aislada" se refiere a una molécula de ácido nucleico proporcionada en la presente que (1) se ha separado de por lo menos aproximadamente 50 por ciento de las proteínas, lípidos, carbohidratos, u otros materiales con los cuales se encuentra naturalmente cuando el ácido nucleico tal se aísla de las células de origen, (2) no se enlaza a todo o una porción de un polinucleótido al cual la "molécula de ácido nucleico aislada" se enlaza en carácter, (3) se enlaza operablemente a un polinucleótido el cual no se enlaza en carácter, o (4) no ocurre en la naturaleza como parte de una secuencia de polinucleótidos más grande. Preferiblemente, una molécula de ácido nucleico aislada está sustancialmente libre de cualquiera de otras moléculas de ácido nucleico contaminantes u

otros contaminantes que se encuentran en sus ambientes naturales que interferirán con su uso en la producción de polipéptido o su uso terapéutico, de diagnóstico, profiláctico o de investigación.

El término "vector" se usa para referirse a cualquier molécula (por ejemplo, ácido nucleico, plásmido o virus) usados para transferir la información de codificación a una célula hospedera.

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

El término "enlazado operablemente" se usa en este documento para referirse a un arreglo de secuencias de flanqueo en donde las secuencias de flanqueo descritas de esta manera están configuradas o ensambladas para realizar su función usual. De esta manera, una secuencia de flanqueo enlazada operablemente a una secuencia de codificación puede ser capaz de efectuar la replicación, transcripción y/o traducción de la secuencia de codificación. Por ejemplo, una secuencia de codificación se enlaza operablemente a un promotor donde el promotor es capaz de dirigir la transcripción de esa secuencia de codificación. Una secuencia de flanqueo no necesita ser contigua con la secuencia de codificación, siempre y cuando funcione correctamente. De esta manera, por ejemplo, la intervención de secuencias ya transcritas no traducidas puede estar presente entre una secuencia promotora

y la secuencia de codificación y la secuencia promotora aún se puede considerar "enlazada operablemente" a la secuencia de codificación.

El término "célula hospedera" se usa para referirse a una célula la cual se ha transformado, o es capaz de ser transformada con una secuencia de ácidos nucleicos, tal como un ácido nucleico proporcionado en la presente, y luego de expresar un gen seleccionado de interés. El término incluye la progenie de la célula precursora, si la progenie es idéntica o no en morfología o en la constitución genética a la precursora original, siempre y cuando el gen seleccionado esté presente.

El término "polipéptido aislado" se refiere a un polipéptido proporcionado en la presente que (1) se ha separado de por lo menos aproximadamente 50 por ciento de polinucleótidos, lípidos, carbohidratos, y otros materiales con los cuales se fusionan naturalmente cuando se aísla de la célula de origen, (2) no se enlaza (mediante la interacción covalente o no covalente) a todo o una porción del polipéptido al cual el "polipéptido aislado" se enlaza en naturaleza, (3) se enlaza operablemente (mediante la interacción covalente o no covalente) a un polipéptido con el cual no se enlaza en naturaleza, o (4) no ocurre en naturaleza. Preferiblemente, el polipéptido aislado está sustancialmente libre de cualquiera de otros polipéptidos contaminantes y otros contaminantes que se encuentran en su ambiente natural que interferirían con su uso terapéutico, de diagnóstico, profiláctico o de investigación.

El término "de origen natural" cuando se usa en relación con los materiales biológicos tales como moléculas de

ácido nucleico, polipéptidos, células hospederas, y los similares, se refiere a materiales que se encuentran en naturaleza y no se manipulan por el hombre. Similarmente, "de origen no natural" como se usa en este documento, se refiere a un material que no se encuentra en la naturaleza o que se ha modificado o sintetizado estructuralmente por el hombre. Cuando se usa en relación con los nucleótidos, el término "de origen natural" se refiere a las bases de adenina (A), citosina (C), guanina (G), timina (T), y uracilo (U). Cuando se usa en relación con los aminoácidos, el término "de origen natural" se refiere a los 20 aminoácidos alanina (A), cisteína (C), ácido aspártico (D), ácido glutámico (E), fenilalanina (F), glicina (G), histidina (H), isoleucina (I), lisina (K), leucina (L), metionina (M), asparagina (N), prolina (P), glutamina (Q), arginina (R), serina (S), treonina (T), valina (V), triptófano (W), y tirosina (Y).

El término "polipéptido FGF21" se refiere a un polipéptido de tipo silvestre de origen natural expresado en humanos. Para propósitos de esta descripción, el término "polipéptido FGF21" se puede usar intercambiablemente para referirse a cualquier polipéptido FGF21 de longitud completa, por ejemplo, SEQ ID NOs: 2 y 6, que consisten de 209 residuos de aminoácido y que se codifican por las secuencias de nucleótidos de SEQ ID NOs: 1 y 5, respectivamente; cualquier forma madura del polipéptido, *por ejemplo*, SEQ ID NOs: 4 y 8, que consisten de 181 residuos de aminoácido y que se codifican por las secuencias de nucleótidos de SEQ ID NOs: 3 y 7, respectivamente, y en el cual los 28 residuos de aminoácido en el extremo amino-terminal del

polipéptido FGF21 de longitud completa (*es decir*, el cual constituye el péptido de señal) se ha removido. Los polipéptidos FGF21 maduros y de longitud completa pueden pero no necesitan comprender una metionina de terminal amino, que puede introducirse al prepararla por ingeniería o como un resultado de un proceso de expresión bacteriana.

Los términos "mutante de polipéptido FGF21" y "mutante FGF21" pueden usarse intercambiablemente y se refieren a un polipéptido FGF21 en el cual una secuencia de aminoácidos FGF21 de origen natural se ha modificado (por ejemplo, SEQ ID NOs: 2, 4, 6 u 8). Estas modificaciones incluyen, pero no se limitan a, una o más sustituciones de aminoácidos, que incluyen sustituciones con aminoácidos no de origen natural y análogos de aminoácidos no de origen natural, y truncamientos. De esta manera, los mutantes de polipéptido FGF21 incluyen, pero no se limitan a, mutantes FGF21 dirigidos al sitio, polipéptidos FGF21 truncados, mutantes FGF21 resistentes a la proteólisis, mutantes FGF21 reductores de agregación, mutantes de combinación FGF21 y proteínas de fusión FGF21, como se describen en este documento. Para el propósito de identificar los truncamientos específicos y las sustituciones de aminoácidos de los mutantes FGF21 de la presente invención, la numeración de los residuos de aminoácido truncados o mutados corresponden a aquel del polipéptido FGF21 de 181 residuos maduros.

Los mutantes FGF21 pueden pero no necesitan comprender una metionina de terminal amino, que puede introducirse al prepararla por ingeniería o como un resultado de un proceso de expresión bacteriana. En otras modalidades de la presente

080055

invención, un mutante de polipéptido FGF21 comprende una secuencia de aminoácidos que es por lo menos aproximadamente 85 por ciento idéntica a la secuencia de aminoácidos de FGF21 mutante, pero en donde los residuos específicos que confieren una propiedad deseable al mutante de polipéptido FGF21, *por ejemplo*, resistencia a la proteólisis, vida media incrementada o propiedades reductoras de agregación y combinaciones de las mismas, no se han modificado adicionalmente. En otras palabras, con la excepción de los residuos en la secuencia de mutante FGF21 que se ha modificado a fin de conferir resistencia a la proteólisis, reducción de agregación u otras propiedades, aproximadamente 15 por ciento de todos los otros residuos de aminoácido en la secuencia de mutante FGF21 se pueden modificar. Por ejemplo, en el mutante FGF21 Q173E, hasta 15 por ciento de todos los residuos de aminoácido diferentes a residuo de ácido glutámico, el cual se sustituyó por glutamina en la posición 173, se podría modificar. En aún otras modalidades, un mutante de polipéptido FGF21 comprende una secuencia de aminoácidos que es por lo menos aproximadamente 90 por ciento, o aproximadamente 95, 96, 97, 98, o 99 por ciento idéntica a la secuencia de aminoácidos de FGF21 mutante, pero en donde los residuos específicos que confieren las propiedades de resistencia a la proteólisis o reducción a la agregación del mutante de polipéptido FGF21 no sean modificados adicionalmente. Estos mutantes de polipéptido FGF21 poseen por lo menos una actividad del polipéptido FGF21 de tipo silvestre.

La presente invención también abarca una molécula de ácido nucleico que codifica un mutante de polipéptido FGF21 que

comprende una secuencia de aminoácidos que es por lo menos aproximadamente 85 por ciento idéntica a la secuencia de aminoácidos de FGF21 mutante, pero en donde los residuos específicos que confieren una propiedad deseable al mutante de polipéptido FGF21, *por ejemplo*, resistencia a la proteólisis, vida media incrementada o propiedades de reducción de agregación y combinaciones de las mismas no se han modificado adicionalmente. En otras palabras, con la excepción de los residuos en la secuencia de mutante FGF21 que se ha modificado a fin de conferir resistencia a la proteólisis, reducción a la agregación u otras propiedades, aproximadamente 15 por ciento de todos los otros residuos de aminoácido en la secuencia de mutante FGF21 se puede modificar. Por ejemplo, en el mutante FGF21 Q173E, hasta 15 por ciento de todos los residuos de aminoácido diferentes al residuo de ácido glutámico, el cual se sustituyó por glutamina en la posición 173, se podría modificar. La presente invención abarca además una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que es por lo menos aproximadamente 90 por ciento, o aproximadamente 95, 96, 97, 98, o 99 por ciento idéntica a la secuencia de nucleótidos que codifica un mutante FGF21, pero en donde los nucleótidos que codifican los residuos de aminoácido que confieren las propiedades de resistencia a la protolisis o reducción a la agregación del mutante del polipéptido FGF21 codificado no se ha modificado adicionalmente. Estas moléculas de ácido nucleico codifican los polipéptidos mutantes FGF21 que proveen por lo menos una actividad del polipéptido FGF21 de tipo silvestre.

El término "mutante de polipéptido FGF21 biológicamente

activo" se refiere a cualquier mutante de polipéptido FGF21 descrito en este documento que posee una actividad del polipéptido FGF21 de tipo silvestre, tal como la capacidad para disminuir la glucosa en la sangre, insulina, triglicéridos, o el colesterol; reducir el peso corporal; y mejorar la tolerancia a la glucosa, gasto de energía, o sensibilidad a la insulina, sin considerar el tipo o número de modificaciones que se han introducido en el mutante de polipéptido FGF21. Los mutantes de polipéptido FGF21 que proveen un nivel de alguna manera disminuido de actividad FGF21 relativa con el polipéptido FGF21 de tipo silvestre no obstante se puede considerar que son mutantes de polipéptido FGF21 biológicamente activos.

Los términos "cantidad efectiva" y "cantidad terapéuticamente efectiva" cada uno se refiere a la cantidad de un mutante de polipéptido FGF21 usado para soportar un nivel observable de una o más actividades biológicas del polipéptido FGF21 de tipo silvestre, tal como la capacidad de disminuir los niveles de glucosa en la sangre, insulina, triglicéridos, o colesterol; reducir el peso corporal; o mejora la tolerancia a la glucosa, gasto de energía, o sensibilidad a la insulina.

El término "portador farmacéuticamente aceptable" o "portador fisiológicamente aceptable" como se usa en este documento, se refiere a uno o más agentes de formulación adecuados para lograr o mejorar el suministro de un mutante de polipéptido FGF21 en el cuerpo de un sujeto humano o no humano. El término incluye cualquiera y todos los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antihongos, agentes isotónicos y que retardan la absorción, y similares que

son fisiológicamente compatibles. Los ejemplos de portadores farmacéuticamente aceptables incluyen uno o más de agua, solución salina, solución amortiguadora salina en fosfato, dextrosa, glicerol, etanol y similares, así como combinaciones de los mismos. En algunos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azucares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol, o cloruro de sodio en una composición farmacéutica. Las sustancias farmacéuticamente aceptables tales como cantidades humectantes o menores de sustancias auxiliares tales como agentes humectantes o emulsificantes, conservadores o soluciones amortiguadoras, que potencian la vida de anaquel o la efectividad del mutante de polipéptido FGF21 también puede actuar como, o formar un componente de, un portador.

El término "antígeno" se refiere a una molécula o una porción de una molécula que es capaz de ser enlazada por un anticuerpo, y adicionalmente que es capaz de ser usada en un animal para producir anticuerpos que son capaces de enlazarse a un epítopo de ese antígeno. Un antígeno puede tener uno o más epítopos.

El término "Fc nativa" se refiere a la molécula o secuencia que comprende la secuencia de un fragmento de enlace no de antígeno que resulta de la digestión de un anticuerpo completo o producido por otros medios, ya sea en forma monomérica o multimérica, y puede contener la región bisagra. La fuente de inmunoglobulina original de la Fc es preferiblemente, pero no necesariamente, de origen humano y puede ser cualquiera de las inmunoglobulinas, aunque se prefieren IgG1 e IgG2. También puede emplearse IgG4. Las moléculas Fc nativas están constituidas de

polipéptidos monoméricos que se pueden enlazar dentro de formas diméricas o multiméricas por la asociación covalente (*es decir*, enlaces de disulfuro) y no covalente. El número de enlaces de disulfuro intermoleculares entre las subunidades monoméricas de las moléculas Fc nativas varía de 1 a 4 dependiendo de la clase (*por ejemplo*, IgG, IgA, e IgE) o subclase (*por ejemplo*, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, e IgGA2). Un ejemplo de una Fc es un dímero enlazado por disulfuro que resulta de la digestión de papaína de un IgG (véase Ellison *y colaboradores.*, 1982, *Nucleic Acids Res.* 10: 4071-9). El término "Fc nativa" como se usa en este documento es genérico a las formas monoméricas, diméricas y multiméricas. Un ejemplo de una secuencia de polipéptidos Fc se presenta en SEQ ID NO: 11, que se deriva de una molécula IgG1 humana. Un Fc nativo puede, pero no necesita, comprender una metionina de terminal amino, que puede introducirse al prepararla por ingeniería o como un resultado de un proceso de expresión bacteriana; tales moléculas Fc todavía se consideran para ser moléculas "Fc nativas".

El término "variante Fc" se refiere a una molécula o secuencia que se modifica de una Fc nativa pero aún comprende un sitio de enlace para el receptor de recuperación, FcRn (receptor Fc neonatal). Las Publicaciones Internacionales Nos. WO 97/34631 y WO 96/32478 describen variantes Fc ejemplares, así como también la interacción con el receptor de recuperación, y se incorporan por este documento a manera de referencia. De esta manera, el término "variante Fc" puede comprender una molécula o secuencia que se humaniza de una Fc nativa no humana. Adicionalmente, una Fc nativa comprende regiones que es pueden remover debido a que

proporcionan características estructurales o actividad biológica que no se requieren para las molécula de fusión de los mutantes FGF21 de la presente invención. De esta manera, el término "variante Fc" comprende una molécula o secuencia que carece de uno o más sitios o residuos Fc, o en los cuales uno o más sitios o residuos Fc se han modificado, que afecta o se implican en: (1) formación de enlace de disulfuro, (2) incompatibilidad con una célula hospedera seleccionada, (3) heterogeneidad N-terminal en la expresión en una célula hospedera seleccionada, (4) glicosilación, (5) interacción con el complemento, (6) enlace a un receptor Fc diferente a un receptor de recuperación, o (7) citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC). Las variantes Fc se describen con detalle adicional a partir de ahora. Una variante Fc puede, pero no necesita, comprender una metionina de terminal amino, que puede introducirse al prepararla por ingeniería o como un resultado de un proceso de expresión bacteriana; tales moléculas Fc todavía se consideran para ser "variantes Fc."

El término "dominio Fc" abarca Fc nativa y variantes Fc y secuencias como se definen anteriormente. Como con las variantes Fc y las moléculas Fc nativas, el término "dominio Fc" incluye moléculas en forma monomérica o multimérica, ya sea digeridas de un anticuerpo completo o producidas por otros medios. En algunas modalidades de la presente invención, un dominio Fc se puede fusionar a FGF21 o un mutante FGF21 (que incluye una forma truncada de FGF21 o un mutante FGF21) por la vía, por ejemplo, de un enlace covalente entre el dominio Fc y la secuencia FGF21. Estas proteínas de fusión pueden formar

multímeros por la vía de la asociación de los dominios Fc y ambas de estas proteínas de fusión y sus multímeros son un aspecto de la presente invención. Un dominio Fc puede, pero no necesita, comprender una metionina de terminal amino, que puede introducirse al prepararla por ingeniería o como un resultado de un proceso de expresión bacteriana.

2. Mutantes FGF21

El término "mutante FGF21" se refiere a un polipéptido de mutante FGF21 que tiene una secuencia de aminoácidos que difiere de la secuencia de aminoácidos de una secuencia de polipéptido FGF21 de origen natural, *por ejemplo*, SEQ ID NOs: 2, 4, 6 u 8, por uno o más aminoácidos. Los mutantes FGF21 se pueden generar al introducir una o más sustituciones de aminoácidos, ya sea conservadoras o no conservadoras y al usar aminoácidos de origen natural o no natural, en las posiciones particulares del polipéptido FGF21.

Una "sustitución de aminoácido conservadora" puede implicar una sustitución de un residuo de aminoácido nativo (*es decir*, un residuo encontrado en una posición proporcionada de la secuencia de polipéptido FGF21 de tipo silvestre) con un residuo no nativo (*es decir*, un residuo que no se encuentra en una posición proporcionada de la secuencia de polipéptido FGF21 de tipo silvestre) tal que existe poco o nada de efecto en la polaridad o carga del residuo de aminoácido en esta posición. Las sustituciones de aminoácidos conservadoras también abarcan residuos de aminoácido no de origen natural que se incorporan típicamente por la síntesis química de polipéptidos antes que por

la síntesis en los sistemas biológicos. Estos incluyen peptidomiméticos, y otras formas inversas o invertidas de porciones de aminoácidos.

Los residuos de origen natural se pueden dividir en clases con base en las propiedades de cadena lateral comunes:

(1) hidrofóbica: norleucina, Met, Ala, Val, Leu, He;

(2) hidrofílica neutra: Cys, Ser, Thr;

(3) ácida: Asp, Glu;

(4) básica: Asn, Gln, His, Lys, Arg;

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

(6) aromática: Trp, Tyr, Phe.

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

Las sustituciones de aminoácidos deseadas (ya sea conservadoras o no conservadoras) se pueden determinar por aquellas personas expertas en el campo en el momento que se desean estas sustituciones. Una lista ejemplar (pero no limitante) de sustituciones de aminoácidos se expone en la Tabla 1.

Tabla 1

Tabla 1 Sustituciones de Aminoácidos

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

3. Polipéptidos FGF21 Truncados

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

Como se usa en este documento, el término "polipéptido FGF21 truncado" se refiere a un polipéptido FGF21 en el cual se han removido residuos de aminoácido del extremo amino-terminal (o N-terminal) del Polipéptido FGF21, residuos de aminoácido que se

000864

han removido del extremo carboxilo-terminal (o C-terminal) del Polipéptido FGF21, o residuos de aminoácido que se han removido de tanto los extremos amino-terminal como carboxilo-terminal del Polipéptido FGF21. Los diversos truncamientos dados a conocer en este documento se prepararon como se describen en los Ejemplos 3 y 6 en este documento.

La actividad de los polipéptidos FGF21 N-terminalmente truncados y polipéptidos FGF21 C-terminalmente truncados se puede someter a ensayo usando un ensayo de ELK-luciferasa *in vitro* como se describe en el Ejemplo 4. Los detalles específicos de los ensayos *in vitro* que se pueden usar para examinar la actividad de los polipéptidos FGF21 truncados se pueden encontrar en el Ejemplo 4.

La actividad de los polipéptidos FGF21 truncados de la presente invención también se puede estimar en un ensayo *in vivo*, tal como ratones db/db, o ratones ob/ob como se muestra en los Ejemplos 5 y 7. Generalmente, para estimar la actividad *in vivo* de un polipéptido FGF21 truncado, el polipéptido FGF21 truncado se puede administrar a un animal de prueba intraperitonealmente. Después de un período de incubación deseado (*por ejemplo*, una hora o más), una muestra de sangre se puede extraer, y se pueden medir los niveles de glucosa en la sangre. Detalles específicos de los ensayos *in vivo* que se pueden usar para examinar la actividad de los polipéptidos FGF21 truncados se pueden encontrar en los Ejemplos 5 y 7.

a. Truncamientos en el N-terminal

En algunas modalidades de la presente invención, los

truncamientos en el N-terminal comprenden 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, u 8 residuos de aminoácido del extremo N-terminal del polipéptido FGF21 maduro, o mutante FGF21. Como se demuestra, por ejemplo, en el Ejemplo 5 y la Figura 3, los polipéptidos FGF21 truncados que tiene los truncamientos en el N-terminal de menos de 9 residuos de aminoácido retienen la capacidad del polipéptido FGF21 maduro de disminuir la glucosa en la sangre en un individuo. Por consiguiente, en modalidades particulares, la presente invención abarca formas truncadas del polipéptido FGF21 o mutantes de polipéptido FGF21 que tienen truncamientos N- terminal 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, o 8 residuos de aminoácido.

b. Truncamientos en el C-terminal

En algunas modalidades de la presente invención, los truncamientos en el C-terminal comprenden 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, o 12 residuos de aminoácido del extremo C-terminal del polipéptido FGF21 maduro. Como se demuestra en, por ejemplo, el Ejemplo 4 y la Figura 1B, los polipéptidos FGF21 truncados que tiene truncamientos en el C-terminal de menos de 13 residuos de aminoácido exhibieron una eficacia de por lo menos 50% de la eficacia del FGF21 de tipo silvestre en un ensayo de ELK-luciferasa *in vitro*, indicando que estos mutantes FGF21 retienen la capacidad del polipéptido FGF21 maduro de disminuir la glucosa en la sangre en un individuo. Por consiguiente, en modalidades particulares, la presente invención abarca formas truncadas de polipéptido FGF21 maduro o mutantes de polipéptido FGF21 que tienen truncamientos en el C-terminal de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, o 12 residuos de aminoácido.

c. Truncamientos en el N-terminal y C-terminal

En algunas modalidades de la presente invención, los polipéptidos FGF21 truncados pueden tener una combinación de truncamientos en el N-terminal y en el C-terminal. Los polipéptidos FGF21 truncados que tiene a combinación de truncamientos en el N-terminal y en el C-terminal comparten la actividad de los polipéptidos FGF21 truncados correspondientes que tienen ya se los truncamientos en el N-terminal o C-terminal solos. En otras palabras, los polipéptidos FGF21 truncados que tiene tanto truncamientos en el N-terminal de menos de 9 residuos de aminoácido como truncamientos en el C-terminal de menos de 13 residuos de aminoácido poseen actividad biológica similar o mayor, por ejemplo actividad de reducción de glucosa en la sangre, como los polipéptidos FGF21 truncados que tienen truncamientos en el N-terminal de menos de 9 residuos de aminoácido o polipéptidos FGF21 truncados que tienen truncamientos en el C-terminal de menos de 13 residuos de aminoácido. Por consiguiente, en modalidades particulares, la presente invención abarca formas truncadas del polipéptido FGF21 maduro o mutantes de polipéptido FGF21 que tienen tanto truncamientos en el N-terminal de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, o 8 residuos de aminoácido como truncamientos en el C-terminal de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, o 12 residuos de aminoácido.

Como con todos los mutantes FGF21 de la presente invención, los polipéptidos FGF21 truncados y mutantes FGF21 pueden comprenden opcionalmente un residuo de metionina amino-terminal, el cual se puede introducir mediante mutación dirigida

o como un resultado de un proceso de expresión bacteriana.

Los polipéptidos FGF21 truncados de la presente invención se pueden preparar como se describe en los Ejemplos 3 y 6. Aquellas personas de experiencia ordinaria en el campo, familiarizados con las técnicas de biología molecular estándares, pueden emplear ese conocimiento, acoplado con la presente descripción, para hacer y usar los polipéptidos FGF21 truncados de la presente invención. Se puede usar técnicas estándares para ADN recombinante, síntesis de oligonucleótidos, cultivo de tejidos y transformación (*por ejemplo*, electroporación, lipofección). *Véase, por ejemplo*, Sambrook *y colaboradores*, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual, supra*, la cual se incorpora en este documento a manera de referencia para cualquier propósito. Las reacciones enzimáticas y las técnicas de purificación se pueden realizar de acuerdo con las especificaciones del fabricante, como es comúnmente logrado en el campo, o como se describe en este documento. A menos que se proporcionen definiciones específicas, las nomenclaturas usadas en relación con, y los procedimientos y técnicas de laboratorio de, química analítica, química orgánica sintética, y química medicinal y farmacéutica descritas en este documento son aquellas bien conocidas y usadas comúnmente en el campo. Las técnicas estándares se pueden usar para las síntesis químicas; análisis químicos; preparación farmacéutica, formulación, y suministro; y tratamiento de pacientes.

Los polipéptidos FGF21 truncados de la presente invención también se pueden fusionar a otra entidad, la cual puede impartir propiedades adicionales al polipéptido FGF21

truncado. En una modalidad de la presente invención, un polipéptido FGF21 truncado se puede fusionar a una secuencia Fc. Esta fusión se puede lograr usando métodos biológicos moleculares conocidos y/o la guía proporcionada en este documento. Los beneficios de estos polipéptidos de fusión, así como también métodos para hacer estos polipéptidos de fusión, se dan a conocer con más detalle en este documento.

4. Mutantes FGF21 Resistentes a Proteólisis

Como se describe en el Ejemplo 8, el FGF21 maduro se descubrió que se somete a la degradación *in vivo*, la cual se determinó finalmente que surge del ataque proteolítico. La degradación *in vivo* del FGF21 maduro se descubrió que conduce a una vida media efectiva más corta, lo cual puede afectar adversamente el potencial terapéutico de una molécula. Por consiguiente, se realizó un estudio dirigido para identificar mutantes FGF21 que exhiben una resistencia a la proteólisis. Como resultado de esta investigación, los sitios en el polipéptido FGF21 maduro que se determinaron por ser particularmente susceptibles a la proteólisis incluyen el enlace de péptido entre los residuos de aminoácido en las posiciones 4-5, 20-21, 151-152, 171-172 y 178-181.

Un estudio amplio pero enfocado y dirigido se realizó para identificar sustituciones particulares que eliminan el efecto proteolítico observado mientras que no afecta la actividad de la proteína a un grado inaceptable. La Tabla 8 y Tabla 11 resaltan algunos de los mutantes que se prepararon y se sometieron a prueba. Como se describe en, por ejemplo, los

Ejemplos 13 y 14, no todos los mutantes FGF21 exhibieron un perfil ideal; algunos mutantes confirieron resistencia a la proteólisis pero a costa de la actividad FGF21 comprometida. Otras mutaciones retuvieron la actividad FGF21 pero no confirieron resistencia a la proteólisis. Varios mutantes, que incluyen, por ejemplo, FGF21 P171G, retuvieron un nivel similar de actividad como el FGF21 de tipo silvestre mientras que también exhiben resistencia a la degradación proteolítica.

Un criterio de selección para identificar mutantes FGF21 resistentes a la proteólisis deseables fue que la actividad del mutante FGF21 es esencialmente el mismo como, o mayor que, la actividad del FGF21 de tipo silvestre. Por lo tanto, otra modalidad de la presente invención se dirige a mutantes FGF21 que son resistentes a la proteólisis y aún retienen la actividad que es esencialmente la misma como, o mayor que, el FGF21 de tipo silvestre. Aunque menos deseable en algunos casos, los mutantes FGF21 que son resistentes a la proteólisis pero exhiben de alguna manera actividad disminuida forman otra modalidad de la presente invención. En algunos casos puede ser deseable mantener un grado de proteólisis, y consecuentemente, los mutantes FGF21 que permiten que ocurra algún grado de proteólisis también pueden formar otra modalidad de la presente invención.

Como con todos los mutantes FGF21 proporcionados en la presente, los mutantes FGF21 resistentes a la proteólisis de la presente invención se pueden preparar como se describe en este documento. Aquellas personas de experiencia ordinaria en el campo, por ejemplo, aquellos familiarizados con las técnicas de biología molecular estándares, pueden emplear ese conocimiento,

acoplado con la presente descripción, para hacer y usar los mutantes FGF21 resistentes a la proteólisis descritos en la presente. Se pueden usar técnicas estándares para ADN recombinante, síntesis de oligonucleótidos, cultivo de tejidos, y transformación (*por ejemplo*, electroporación, lipofección). *Véase, por ejemplo*, Sambrook *y colaboradores, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, supra*, la cual se incorpora en este documento a manera de referencia para cualquier propósito. Las reacciones enzimáticas y las técnicas de purificación se pueden realizar de acuerdo con las especificaciones del fabricante, como ser logra comúnmente en el campo, o como es describe en este documento. A menos que se proporcionen definiciones específicas, las nomenclaturas usadas en relación con, y los procedimientos y técnicas de laboratorio de, química analítica, química orgánica sintética, y química medicinal y farmacéutica descritas en este documento son aquellas bien conocidas y comúnmente usadas en el campo. Se pueden usar técnicas estándares para la síntesis química, análisis químicos, preparación farmacéutica, formulación, y suministro; y tratamiento de pacientes.

Los mutantes FGF21 resistentes a la proteólisis de la presente invención se pueden fusionar a otra entidad, la cual puede impartir propiedades adicionales al mutante FGF21 resistentes a proteólisis. En una modalidad de la presente invención, un mutante FGF21 resistentes a la proteólisis se puede fusionar a una secuencia IgG Fc, *por ejemplo*, SEQ ID NO: 11. Esta fusión se puede lograr usando métodos biológicos moleculares conocidos y/o la guía proporcionada en este documento. Los beneficios de estos polipéptidos de fusión, así como también

métodos para hacer estos polipéptidos de fusión, son conocidos y se plantean con más detalle en este documento.

5. Mutantes FGF21 de Reducción de Agregación

Como se describe en el Ejemplo 15, una propiedad del polipéptido FGF21 de tipo silvestre es su propensión al agregado. En las concentraciones arriba de aproximadamente 5 mg/mL, la velocidad de agregación es alta a temperatura ambiente. Como se muestra y se describe en este documento, la velocidad de agregación para el polipéptido FGF21 de tipo silvestre es dependiente tanto de concentración como de temperatura.

La agregación puede probar que es un reto cuando se trabaja con el FGF21 de tipo silvestre en estas concentraciones, tal como en el contexto de una formulación terapéutica. Por consiguiente, se realizó un estudio dirigido para identificar mutantes FGF21 que exhiben agregación FGF21 reducida. Los mutantes FGF21 resultantes luego se sometieron a prueba para la propensión de agregarse en varias concentraciones.

Se realizó un estudio amplio pero enfocado y dirigido para identificar sustituciones particulares que eliminan o reducen el efecto de agregación observado del FGF21 de tipo silvestre mientras que no afecta la actividad de la proteína a un grado inaceptable. El procedimiento para identificar mutantes de reducción de agregación adecuados se describen en el Ejemplo 15. La Tabla 16 resalta algunos de los mutantes que se prepararon y se sometieron a prueba. Como se describe en, por ejemplo, el Ejemplo 17, no todos los mutantes FGF21 exhibieron un perfil ideal. Algunos mutantes, tal como FGF21 L58E tuvieron la

actividad FGF21 comprometida y no se estudiaron adicionalmente. Otras mutaciones, tal como FGF21 A134E, retuvieron la actividad FGF21 pero no confirieron propiedades de agregación reducidas. Varios mutantes, tal como FGF21 L98R, retuvieron la actividad FGF21 y también exhibieron agregación reducida. Un mutante, FGF21 A45K, exhibió sorprendentemente una actividad incrementada mientras que tampoco exhibió propiedades de agregación reducidas.

Un criterio de selección para identificar los mutantes FGF21 de reducción de agregación deseables fue que la actividad del mutante FGF21 fue esencialmente similar a, o mayor que, la actividad del FGF21 de tipo silvestre. Por lo tanto, otra modalidad de la presente invención se dirige a mutantes FGF21 que tienen propiedades de agregación reducidas mientras que aún retienen una actividad FGF21 que es similar a, o mayor que, el FGF21 de tipo silvestre. Aunque menos deseable en algunos casos, los mutantes FGF21 que tienen propiedades de agregación reducidas pero que exhiben de alguna manera actividad FGF21 disminuida forman otra modalidad de la presente invención. En algunos casos, puede ser deseable mantener un grado de agregación, y consecuentemente, los mutantes FGF21 que permitan que ocurra algún grado de agregación también forman otra modalidad de la presente invención.

Como con todos los mutantes FGF21 proporcionados en la presente, los mutantes FGF21 de reducción de agregación proporcionados en la presente se pueden preparar como se describe en este documento. Aquellas personas de experiencia ordinaria en el campo, familiarizadas con las técnicas de biología molecular estándares pueden emplear ese conocimiento, acoplado

presente descripción, para ser y usar los mutantes FGF21 de reducción de agregación de la presente invención. Se pueden usar técnicas estándares para ADN recombinante, síntesis de oligonucleótidos, cultivo de tejidos, y transformación (*por ejemplo*, electroporación, lipofección). *Véase, por ejemplo*, Sambrook *y colaboradores, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, supra*, la cual se incorpora en este documento a manera de referencia para cualquier propósito. Las reacciones enzimáticas y técnicas de purificación se pueden realizar de acuerdo con las especificaciones del fabricante, como se logra comúnmente en el campo, o como se describe en este documento. A menos que se proporcionen definiciones específicas, la nomenclatura usadas en relación con, y los procedimientos y técnicas de laboratorio de, la química analítica, química orgánica sintética, y química medicinal y farmacéutica descrita en este documento son aquellos bien conocidos y usados comúnmente en el campo. Se pueden usar técnicas estándares para síntesis químicas; análisis químicos; preparación farmacéutica, formulación, y suministro; y tratamiento de pacientes.

Los mutantes FGF21 de reducción de agregación de la presente invención se pueden fusionar a otra entidad, la cual puede impartir propiedades adicionales al mutante FGF21 de reducción de agregación. En una modalidad de la presente invención, un mutante FGF21 de reducción de agregación se puede fusionar a una secuencia IgG Fc, *por ejemplo*, SEQ ID NO: 11. Esta fusión se puede lograr usando métodos biológicos moleculares conocidos y/o la guía proporcionada en este documento. Los beneficios de estos polipéptidos de fusión, así como también

métodos para hacer estos polipéptidos de fusión, se plantean con más detalle en este documento.

6. Mutantes de Combinación FGF21

Como se describe en este documento, la secuencia FGF21 de tipo silvestre posee varias propiedades que pueden plantear retos significativos cuando FGF21 se usa como una molécula terapéutica. Entre estos retos son la susceptibilidad a la degradación de la proteína y su propensión a la agregación en una alta concentración. Después de un esfuerzo exhaustivo para identificar los polipéptidos FGF21s que superan cada uno de estos retos, se realizó un estudio dirigido para determinar si las sustituciones de aminoácido que confieren resistencia a la proteólisis y aquellas que confieren propiedades de reducción de agregación se podrían combinar en un aditivo o forma sinérgica en una secuencia de polipéptidos individual mientras que mantienen los niveles de actividad que son iguales a o mayores que la actividad del FGF21 de tipo silvestre. Esto representó un reto significativo, ya que se sabe en el campo que la introducción de múltiples mutaciones en un polipéptido proporcionado algunas veces puede afectar adversamente la expresión, actividad, y fabricación subsecuente de la proteína.

Sorprendentemente, como se demuestra en, por ejemplo, los Ejemplos 19 y 20, se descubrió que las propiedades deseables de varios mutantes FGF21 de hecho se podrían combinar en una forma de aditivo o sinérgica para genera un mutante FGF21 que tiene propiedades farmacéuticas mejoradas. Se dan a conocer en este documento mutantes FGF21 que son resistentes a la

proteólisis, tienen una velocidad reducida de agregación, y los cuales aún retienen la actividad que es la misma como, o mayor que, el FGF21 de tipo silvestre.

Un criterio de selección para identificar mutantes de combinación FGF21 deseables fue que la actividad del mutante FGF21 es similar a, o mayor que, la actividad del FGF21 de tipo silvestre. Por lo tanto, otra modalidad de la presente invención se dirige a mutantes FGF21 que son resistentes a la proteólisis y tienen propiedades de agregación reducidas mientras que aún retienen una actividad FGF21 que es similar a, o mayor que, FGF21 de tipo silvestre. Aunque menos deseables en algunos casos, los mutantes FGF21 que son resistentes a la proteólisis y tienen propiedades de agregación reducidas pero exhiben de alguna manera una actividad FGF21 disminuida forman otra modalidad de la presente invención. En algunos casos, puede ser deseable mantener un grado de proteólisis y/o agregación, y consecuentemente, los mutantes FGF21 que permiten algún grado de proteólisis y/o agregación también forman otra modalidad de la presente invención.

Como con todos los mutantes FGF21 de la presente invención, los mutantes de combinación FGF21 de la presente invención se pueden preparar como se describe en este documento. Aquellas personas de experiencia ordinaria en el campo, familiarizadas con las técnicas de biología molecular estándares, pueden emplear ese conocimiento, acoplado con la presente descripción, para hacer y usar los mutantes de combinación FGF21 de la presente invención. Se pueden usar técnicas estándares para ADN recombinante, síntesis de oligonucleótidos, cultivo de

tejidos, y transformación (*por ejemplo*, electroporación, lipofección). *Véase, por ejemplo*, Sambrook *y colaboradores*, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual, supra*, la cual se incorpora en este documento a manera de referencia para cualquier propósito. Las reacciones enzimáticas y las técnicas de purificación se pueden realizar de acuerdo con las especificaciones del fabricante como se logra comúnmente en el campo, o como es describe en este documento. A menos que se proporcionen definiciones específicas las nomenclaturas usadas en relación con, y los procedimientos y técnicas de laboratorio de, química analítica, química orgánica sintética, y química medicinal y farmacéutica descritas en este documento son aquellas bien conocidas y comúnmente usadas en el campo. Se pueden usar técnicas estándares para síntesis químicas; análisis químico; preparación farmacéutica, formulación y suministro; y tratamiento de pacientes.

Los mutantes de combinación FGF21 de la presente invención se pueden fusionar a otra entidad, la cual puede impartir propiedades adicionales al mutante de combinación. En una modalidad de la presente invención, un mutante de combinación FGF21 se puede fusionar a una secuencia IgG Fc, *por ejemplo*, SEQ ID NO: 11. Esta fusión se puede lograr usando métodos biológicos moleculares conocidos y/o la guía proporcionada en este documento. Los beneficios de estos polipéptidos de fusión, así como también métodos para hacer estos polipéptidos de fusión, se plantean con más detalle en este documento.

000077

7. Proteínas de Fusión FGF21

Como se usa en este documento, el término "polipéptido de fusión FGF21" o "proteína de fusión FGF21" se refiere a una fusión de uno o más residuos de aminoácido (tal como una proteína o péptido heterólogo) en la N-terminal o C-terminal de cualquier mutante de polipéptido FGF21 descrito en este documento.

Los péptidos y polipéptidos heterólogos incluyen, pero no se limitan a, un epítopo para permitir la detección y/o aislamiento de un mutante de polipéptido FGF21; una proteína del receptor transmembrana o una porción de la misma, tal como un dominio extracelular o un dominio transmembrana e intracelular; un ligando o una porción del mismo el cual se enlaza a una proteína del receptor transmembrana; una enzima o porción de la misma que es catalíticamente activa; un polipéptido o péptido el cual promueve la oligomerización, tal como un dominio de cremallera de leucina; un polipéptido o péptido el cual incrementa la estabilidad, tal como una región constante de inmunoglobulina (por ejemplo, un dominio Fc); una secuencia que extiende la vida media que comprende una combinación de dos o más (por ejemplo, 2, 5, 10, 15, 20, 25, etc) aminoácidos cargados y/o no cargados que se presentan naturalmente o que no se presentan naturalmenhte (por ejemplo, Serina, Glicina, ácido glutámico o aspártico) diseñado para formar un compañero de fusión predominantemente hidrofóbico o predominantemente hidrofílico para un mutante FGF21; un anticuerpo funcional o no funcional, o una cadena pesada o ligera del mismo; y un polipéptido el cual tiene una actividad, tal como una actividad terapéutica, diferente de los mutantes del polipéptido FGF21 de la presente invención. También se abarcan por la presente invención los

mutantes FGF21 fusionados a la albúmina de suero humana (HSA).

Las proteínas de fusión FGF21 se pueden hacer al fusionar secuencias heterólogas en ya sea la N-terminal o en la C-terminal de un mutante de polipéptido FGF21. Como se describe en este documento, una secuencia heteróloga puede ser una secuencia de aminoácidos o un polímero que no contiene aminoácidos. Las secuencias heterólogas se pueden fusionar ya sea directamente al mutante del polipéptido FGF21 o por la vía de una molécula enlazadora o adaptadora. Una molécula enlazadora o adaptadora puede ser uno o más residuos de aminoácido (o -mers), *por ejemplo*, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, o 9 residuos (o -mers), preferiblemente de 10 a 50 residuos de aminoácido (o -mers), *por ejemplo*, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, o 50 residuos (o -mers), y más preferiblemente de 15 a 35 residuos de aminoácido (o -mers). Una molécula enlazadora o adaptadora también se puede diseñar con un sitio de escisión para una endonucleasa de restricción de ADN o para una proteasa para permitir la separación de las porciones fusionadas.

a. Fusiones Fc

En una modalidad de la presente invención, un mutante de polipéptido FGF21 se fusiona a un dominio Fc, por ejemplo, uno o más dominios de una región Fc de un IgG humano. Los anticuerpos comprenden dos partes funcionalmente independientes, un dominio variable conocido como "Fab", que se enlaza a un antígeno, y un dominio constante conocido como "Fc", que se implica en las funciones efectoras tal como activación de complemento y ataque por células fagocíticas. Un Fc tiene una vida media en suero

larga, mientras que un Fab es de corta duración (Capon *y colaboradores*, 1989, *Nature* 337: 525-31). Cuando se unen junto con una proteína terapéutica, un dominio Fc puede proporcionar vida media más prolongada o incorporar estas funciones como el enlace del receptor Fc, enlace de proteína A, fijación de complemento, y tal vez a un transferencia placentaria (Capon *y colaboradores*, 1989).

El análisis farmacocinético *in vivo* indicó que el FGF21 humano tiene una vida media corta de aproximadamente 1 hora en ratones debido a la rápida eliminación y degradación *in vivo*. Por lo tanto, para prolongar la vida media del FGF21 se fusionó una secuencia Fc nativa al extremo N- o C-terminal del polipéptido FGF21. La fusión de la secuencia Fc al FGF21 de tipo silvestre, en particularmente el Fc fusionado a la N-terminal del FGF21 de tipo silvestre, no prolongó la vida media como se esperó, sin embargo, esta observación condujo a una investigación de la degradación proteolítica del FGF21 *in vivo* y a la identificación de los mutantes FGF21 que fueron resistentes a esta degradación. Estos mutantes se describen en, por ejemplo, los Ejemplos 9 y 11, y exhiben vidas medidas más prolongadas que el FGF21 de tipo silvestre. Estas y otras proteínas de fusión FGF21 forman modalidades de la presente invención.

Por toda la descripción actual, Fc-(L15)-FGF21 se refiere a una proteína de fusión en la cual la secuencia Fc se fusiona a la N-terminal de FGF21. Similarmente, por toda la descripción, FGF21-Fc se refiere a una proteína de fusión en la cual la secuencia Fc se fusiona a la C-terminal de FGF21.

La proteína de fusión FGF21 resultante se puede

purificar, por ejemplo, mediante el uso de una columna de afinidad de proteína A. los péptidos y proteínas fusionados a una región Fc se han descubierto que exhiben una vida media sustancialmente mayor *in vivo* que la contraparte no fusionada. También, una fusión en la región Fc permite la dimerización/multimerización del polipéptido de fusión. La región Fc puede ser una región Fc de origen natural, o se puede alterar para mejorar ciertas cualidades, tales como cualidades terapéuticas, tiempo de circulación o agregación reducida.

Modificaciones útiles de agentes terapéuticos proteínicos por la fusión con el dominio "Fc" de un anticuerpo se plantean con detalle en la Publicación Internacional No. WO 00/024782, la cual se incorpora en este documento a manera de referencia en su totalidad.

b. Ligaduras de Proteína de Fusión

Al formar las proteínas de fusión de la presente invención, una ligadura puede, pero no necesita ser empleado. Cuando está presente, la estructura química de la ligadura puede ser no crítica, puesto que sirve principalmente como un espaciador. La ligadura puede estar constituida de aminoácidos enlazados conjuntamente por enlaces de péptido. En algunas modalidades de la presente invención, la ligadura está constituida de 1 a 20 aminoácidos enlazados por enlaces de péptido, en donde los aminoácidos se seleccionan de los 20 aminoácidos de origen natural. En varias modalidades, se selecciona de 1 a 20 aminoácidos de los aminoácidos glicina, serina, alanina, prolina, asparagina, glutamina y lisina. En

algunas modalidades, una ligadura está constituida de una mayoría de aminoácidos que son estéricamente impedidos, tal como glicina y alanina. En algunas modalidades, las ligaduras son poliglicinas (tal como $(Gly)_4$ (SEQ ID NO: 29) y $(Gly)_5$ (SEQ ID NO: 30)), polialaninas, combinaciones de glicina y alanina (tal como poli(Gly- Ala)), o combinaciones de glicina y serina (tal como poli(Gly-Ser)). Otras ligaduras adecuadas incluyen: $(Gly)_5$-Ser-$(Gly)_3$-Ser-$(Gly)_4$-Ser (SEQ ID NO: 28), $(Gly)_4$- Ser-$(Gly)_4$-Ser-$(Gly)_4$-Ser (SEQ ID NO:31), $(Gly)_3$-LyS-$(Gly)_4$ (SEQ ID NO:32), $(Gly)_3$-Asn-Gly- Ser-$(Gly)_2$ (SEQ ID NO:33), $(Gly)_3$-CyS-$(Gly)_4$ (SEQ ID NO:34), y Gly-Pro-Asn-Gly-Gly (SEQ ID NO:35). Mientras que una ligadura de 15 residuos de aminoácido se ha descubierto que funciona particularmente bien para las proteínas de fusión FGF21, la presente invención contempla ligaduras de cualquier longitud o composición. Cuando una ligadura se empleó para unir a la secuencia heteróloga, tal como un dominio Fc, y un polipéptido FGF21 o mutante FGF21, la ligadura se expresa en paréntesis.

Las ligaduras descritas en este documento son ejemplares, y las ligaduras que son mucho más grandes y las cuales incluyen otros residuos se contemplan por la presente invención. Las ligaduras no de péptido también se contemplan por la presente invención. Por ejemplo, las ligaduras de alquilo tal como $-NH-(CH_2)_s-C(O)-$, en donde s = 2 a 20, se podrían usar. Estas ligaduras de alquilo se pueden sustituir adicionalmente por cualquier grupo no estéricamente impedido, que incluye, pero no se limita a, un alquilo inferior (*por ejemplo*, C1-C6), acilo inferior, halógeno (*por ejemplo*, Cl, Br), CN, NH_2, o fenilo. Una ligadura no de péptido ejemplar es una ligadura de

polietilenglicol, en donde la ligadura tiene un peso molecular de 100 a 5000 kD, por ejemplo, 100 a 500 kD.

8. Mutantes FGF21 Químicamente Modificados

Las formas químicamente modificadas de los mutantes de polipéptido FGF21 descritos en este documento, que incluyen las formas truncadas de FGF21 descritas en este documento, se pueden preparar para una persona experta en el campo, dadas las descripciones descritas en este documento. Estos mutantes FGF21 químicamente modificados se alteran tal que el mutante FGF21 químicamente modificado es diferente del mutante FGF21 no modificado, ya sea en el tipo o ubicación de las moléculas unidas naturalmente al mutante FGF21. Los mutantes FGF21 químicamente modificados pueden incluir moléculas formadas por la supresión de uno o más grupos químicos naturalmente unidos.

En una modalidad, los mutantes de polipéptido FGF21 de la presente invención se pueden modificar por la unión covalente de uno o más polímeros. Por ejemplo, el polímero seleccionado es típicamente soluble en agua de modo que la proteína a la cual se une no se precipita en un medio ambiente acuoso tal como un medio ambiente fisiológico. Se incluye dentro del alcance de los polímeros adecuados una mezcla de polímeros. Preferiblemente, para el uso terapéutico de la preparación del producto final, el polímero será farmacéuticamente aceptable. Los polímeros solubles no en agua conjugados a los mutantes de polipéptido FGF21 de la presente invención también forman un aspecto de la invención.

Cada uno de los polímeros ejemplares puede ser de cualquier pero molecular y puede ser ramificado o no ramificado.

Cada uno de los polímeros tiene típicamente un peso molecular promedio de entre aproximadamente 2 kDa a aproximadamente 100 kDa (el término "aproximadamente" indica que en las preparaciones de un polímero soluble en agua, algunas moléculas pesarán más y algunas menos que el peso molecular establecido). El pero molecular promedio de cada polímero está preferiblemente entre aproximadamente 5 kDa y aproximadamente 50 kDa, más preferiblemente entre aproximadamente 12 kDa y aproximadamente 40 kDa, y mucho más preferiblemente entre aproximadamente 20 kDa y aproximadamente 35 kDa.

Los polímeros solubles en agua adecuados o mezclas de los mismos incluyen, pero no se limitan a, carbohidratos ligados en N u ligados en O, azúcares, fosfatos, polietilenglicol (PEG) (incluyendo las formas de PEG que se han usado para modificar proteínas, que incluyen mono- (C_1-C_{10}), alcoxi-, o ariloxi-polietilenglicol), monometoxi-polietilenglicol, dextrano (tal como dextrano de peso molecular bajo de, por ejemplo, de aproximadamente 6 kD), celulosa, u otros polímeros basados en carbohidratos, poli-(N-vinil-pirrolidona) polietilenglicol, homopolímeros de propilenglicol, copolímeros de óxido de polipropileno/óxido de etileno, polioles polioxietilados (*por ejemplo*, glicerol), y alcohol polivinílico. También se abarcan por la presente invención moléculas reticuladoras bifuncionales que se pueden usar para preparar multímeros de mutante de polipéptido FGF21 covalentemente unidos. También se abarcan por la presente invención mutantes FGF21 covalentemente unidos a ácido polisiálico.

En algunas modalidades de la presente invención, un

mutante FGF21 se modifica covalente o químicamente para incluir uno o más polímeros solubles en agua, que incluyen, pero no se limitan a, polietilenglicol, (PEG), polioxietilenglicol, o polipropilenglicol. Véase, *por ejemplo*, las Patentes de E.U.A. Nos. 4,640,835; 4,496,689; 4,301,144; 4,670,417; 4,791,192; y 4,179,337. En algunas modalidades de la presente invención, un mutante FGF21 comprende uno o más polímeros, que incluyen pero no se limitan a, monometoxi-polietilenglicol, dextrano, celulosa, otro polímero basado en carbohidratos, poli-(N-vinilpirrolidona)-polietilenglicol, homopolímeros de propilenglicol, un copolímero de óxido de polipropileno/óxido de etileno, polioles polioxietilados (*por ejemplo*, glicerol), alcohol polivinílico, o mezclas de estos polímeros.

En algunas modalidades de la presente invención, un mutante FGF21 se modifica covalentemente con subunidades de PEG. En algunas modalidades, uno o más polímeros solubles en agua se enlazan en una o más posiciones específicas (por ejemplo, en la N-terminal) del mutante FGF21. En algunas modalidades, uno o más polímeros solubles en agua se unen aleatoriamente a una o más cadenas laterales de un mutante FGF21. En algunas modalidades, el PEG se usa para mejorar la capacidad terapéutica de un mutante FGF21 ciertos de estos métodos son planteados, por ejemplo, en la patente de E.U.A. No. 6,133,426, la cual se incorpora por este documento a manera de referencia para cualquier propósito.

En modalidades de la presente invención en donde el polímero es PEG, el grupo PEG puede ser de cualquier peso molecular conveniente, y puede ser lineal o ramificado. El peso molecular promedio del grupo PEG variará preferiblemente de

aproximadamente 2 kD a aproximadamente 100 kDa, y más preferiblemente de aproximadamente 5 kDa a aproximadamente 50 kDa, *por ejemplo*, 10, 20, 30, 40, o 50 kDa. Los grupos PEG se unirán generalmente al mutante FGF21 por la vía de la acilación o alquilación reductora a través de un grupo reactivo sobre la porción PEG (*por ejemplo*, un grupo aldehído, amino, tiol, o éster) a un grupo reactivo sobre el mutante FGF21 (*por ejemplo*, un grupo aldehído, amino, o éster).

La PEGilación de un polipéptido, que incluye los mutantes FGF21 de la presente invención, se puede llevar a cabo específicamente usando cualquiera de las reacciones de PEGilación conocidas en el campo. Estas reacciones se describen, por ejemplo, en las siguientes referencias: Francis *y colaboradores*, 1992, *Focus on Growth Factors* 3: 4-10; Patentes Europeas Nos. 0 154 316 y 0 401 384; y la Patente de E.U.A. No. 4,179,337. Por ejemplo, la PEGilación se puede llevar a cabo por la vía de una reacción de acilación o una reacción de alquilación con una molécula de polietilenglicol reactiva (o un polímero soluble en agua reactivo análogo) como se describe en este documento. Para las reacciones de acilación, un polímero seleccionado debe tener un grupo éster reactivo individual. Para la alquilación reducida, un polímero seleccionado debe tener un grupo aldehído reactivo individual. Un aldehído reactivo es, por ejemplo, propionaldehído de polietilenglicol, el cual es estable en agua, o derivados de mono o ariloxi de 1 a 10 átomos de carbono de los mismos (véase, *por ejemplo*, Patente de E.U.A. No. 5,252,714).

En algunas modalidades de la presente invención, una estrategia útil para la unión del grupo PEG a un polipéptido

implica combinar, a través de la formación de un enlace conjugado en solución, un péptido y una porción de PEG, cada una lleva una funcionalidad especial que es mutuamente reactiva hacia la otra. Los péptidos se pueden preparar fácilmente con síntesis de fase sólida convencional. Los péptidos se "pre-activan" con un grupo funcional apropiado en un sitio específico. Los precursores se purifican y se caracterizan totalmente antes de reaccionar con la porción PEG. La ligación del péptido con PEG toma lugar usualmente en fase acuosa y se puede supervisar fácilmente por la HPLC analítica de fase inversa. Los péptidos PEGilados se pueden purificar fácilmente por la HPLC preparativa y se caracteriza por una HPLC analítica, análisis de aminoácidos y espectrometría de masas de desorción láser.

Los polímeros de polisacárido son otro tipo de polímero soluble en agua que se puede usar para la modificación de proteínas. Por lo tanto, los mutantes FGF21 de la presente invención fusionados a un polímero de polisacárido forman modalidades de la presente invención. Los dextranos son polímeros de polisacárido comprendido de subunidades individuales de glucosa enlazadas predominantemente por los enlaces alfa 1-6. El dextrano mismo está disponible en muchos intervalos de peso molecular, y está fácilmente disponible en pesos moleculares de aproximadamente 1 kD a aproximadamente 70 kD. El dextrano es un polímero soluble en agua adecuado para el uso como un vehículo por sí mismo o en combinación con otro vehículo (*por ejemplo*, Fc). Véase, *por ejemplo*, Publicación Internacional No. WO 96/11953. Se ha reportado el uso de dextrano conjugado con inmunoglobulinas terapéuticas o de diagnóstico. Véase, *por*

ejemplo, Publicación de Patente Europea No. 0 315 456, la cual se incorpora en este documento a manera de referencia. La presente invención también abarca el uso de dextrano de aproximadamente 1 kD a aproximadamente 20 kD.

En general, la modificación química se puede realizar bajo cualquier condición adecuada y usada para hacer reaccionar una proteína con una molécula de polímero activada. Métodos para preparar polipéptidos químicamente modificados comprenderán generalmente las etapas de: (a) hacer reaccionar el polipéptido con la molécula de polímero activada (tal como un éter reactivo o derivado de aldehído de la molécula de polímero) bajo condiciones mediante las cuales un mutante de polipéptido FGF21 llega a ser unido a una o más moléculas de polímero, y (b) obtener los productos de reacción. Las condiciones de reacción óptimas se determinarán con base en parámetros conocidos y el resultado deseado. Un ejemplo de esto es, mientras más grande es la relación de las moléculas de polímero a la proteína, mayor es el porcentaje de la molécula de polímero unida. En una modalidad de la presente invención, los mutantes FGF21 químicamente modificados pueden tener una sola porción de molécula de polímero en la amino-terminal (*véase, por ejemplo*, la Patente de E.U.S. No. 5,234,784).

En otra modalidad de la presente invención, los mutantes de polipéptido FGF21 se pueden acoplar químicamente a la biotina. Los mutantes de polipéptido biotina/FGF21 luego se dejan enlazar a la avidina, dando por resultado mutantes de polipéptido avidina/biotina/FGF21 tetravalentes. Los mutantes de polipéptido FGF21 también se pueden acoplar covalentemente al dinitrofenol

(DNP) o trinitrofenol (TNP) y los conjugados resultantes precipitados con el anti-DNP o anti-TNP-IgM para formar conjugado decaméricos con una valencia de 10.

Generalmente, las condiciones que se pueden mejorar o modular por la administración de los mutantes FGF21 químicamente modificados descritos incluyen aquellas condiciones descritas en la presente para los mutantes de polipéptido FGF21. Sin embargo, los mutantes FGF21 químicamente modificados dados a conocer en este documento pueden tener actividades adicionales, actividad biológica mejorada o reducida, u otras características, tal como vida media incrementada o disminuida, como es comparado con los mutantes FGF21 no modificaos.

9. Composiciones Farmacéuticas de Mutantes FGF21 y Administración de las Mismas

Las composiciones farmacéuticas que comprenden mutantes FGF21 están dentro del alcance de la presente invención, y se contemplan específicamente en vista de la identificación de varias secuencias FGF21 mutantes que exhiben propiedades mejoradas. Estas composiciones farmacéuticas de mutante FGF21 pueden comprender una cantidad terapéuticamente efectiva de un mutante de polipéptido FGF21 en mezcla con un agente de formulación farmacéutica o fisiológicamente aceptable seleccionado para conveniencia con el modo de administración.

Los agentes de formulación aceptables son preferiblemente no tóxicos a los recipientes en las dosificaciones y concentraciones empleadas.

La composición farmacéutica puede contener agentes de

formulación para modificar, mantener o preservar, por ejemplo, el pH, osmolaridad, viscosidad, claridad, color, isotonicidad, olor, esterilidad, estabilidad, velocidad de disolución o liberación, absorción, o penetración de la composición. Los agentes de formulación adecuados incluyen, pero no se limitan a, aminoácidos (tal como glicina, glutamina, asparagina, arginina, o lisina), antimicrobianos, antioxidantes (tal como ácido ascórbico, sulfito de sodio, o hidrógeno-sulfito de sodio), soluciones amortiguadoras (tal como borato, bicarbonato, Tris-HCl, citratos, fosfatos, u otros ácidos orgánicos), agentes de volumen (tal como manitol y glicina), agentes quelantes (tal como ácido etilendiamin tetraacético (EDTA)), agentes de complejo (tal como cafeína, polivinilpirrolidona, beta-ciclodextrina, o hidroxipropil-beta-ciclodextrina), rellenadores, monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos (tal como glucosa, manosa, o dextrinas), proteínas (tal como albúmina de suero, gelatina o inmunoglobulinas), agentes colorantes, saborizantes y de dilución, agentes emulsionantes, polímeros hidrofílicos (tal como polivinilpirrolidona), polipéptidos de peso molecular bajo, contraiones formadores de sal (tal como sodio), conservadores (tal como cloruro de benzalconio, ácido benzoico, ácido salicílico, timorosal, alcohol genetílico, metilparabeno, propilparabeno, clorhexidina, ácido sórbico, o peróxido de hidrógeno), solventes (tal como glicerina, propilenglicol, o polietilenglicol), alcoholes de azúcar (tal como manitol o sorbitol), agentes de suspensión, surfactantes o agentes humectantes (tal como plurónicos; PEG; ésteres de sorbitan; polisorbatos tal como polisorbato 20 o polisorbato 80; triton;

trometamina; lecitina; colesterol o tiloxapal), agentes mejoradores de la estabilidad (tal como sacarosa o sorbitol), agentes mejoradores de tonicidad (tal como haluros de metal alcalino - preferiblemente cloruro de sodio o potasio - o manitol sorbitol), vehículos de suministro, diluyentes, excipientes y/o adyuvantes farmacéuticos (*véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences* (18th Ed., A.R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company 1990), y ediciones subsecuentes de los mismos, incorporados en este documento a manera de referencia para cualquier propósito).

La composición farmacéutica óptima se determinará por un técnico experto dependiendo, por ejemplo, de la vía propuesta de administración, formato de suministro, y dosificación deseada (*véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, supra*). Estas composiciones pueden afectar el estado físico, estabilidad, velocidad de liberación *in vivo*, y velocidad de eliminación *in vivo* del mutante de polipéptido FGF21.

El vehículo o portador primario en una composición farmacéutica puede ser ya sea acuoso o no acuoso en carácter. Por ejemplo, un vehículo o portador adecuado para la inyección puede ser agua, solución salina fisiológica, o líquido cefalorraquídeo artificial, suplementado posiblemente con otros materiales comunes en las composiciones para la administración parenteral. La solución salina amortiguada neutra o solución salina mezclada con albúmina de suero son vehículos ejemplares adicionales. Otras composiciones farmacéuticas ejemplares comprenden solución amortiguadora Tris de aproximadamente pH 7.0-8.5, o solución amortiguadora de acetato de aproximadamente pH 4.0-5.5, las

cuales pueden incluir además sorbitol o un substituto adecuado. En una modalidad de la presente invención, las composiciones mutantes de polipéptido FGF21 se pueden preparar para almacenamiento al mezclar la composición seleccionada que tiene el grado deseado de pureza con agentes de formulación opcionales (*Remington's Pharmaceutical Sciences, supra*) en la forma de una torta liofilizada o una solución acuosa. Adicionalmente, el producto de mutante de polipéptido FGF21 se puede formular como un liofilizado usando excipientes apropiados tal como sacarosa.

Las composiciones farmacéuticas de mutante de polipéptido FGF21 se pueden seleccionar para el suministro parenteral. Alternativamente, las composiciones se pueden seleccionar para la inhalación o para el suministro a través del tracto digestivo, tal como oralmente. La preparación de estas composiciones farmacéuticamente aceptables está dentro de la experiencia del campo.

Los componentes de formulación están presentes en concentraciones que son aceptables para el sitio de administración. Por ejemplo, las soluciones amortiguadoras se usan para mantener la composición en pH fisiológico o en un pH ligeramente más bajo, típicamente dentro de un intervalo de pH de aproximadamente 5 a aproximadamente 8.

Cuando la administración parenteral se contempla, las composiciones terapéuticas para el uso en esta invención pueden estar en la forma de una solución acuosa, parenteralmente aceptable, sin pirógeno que comprende el mutante de polipéptido FGF21 deseado en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Un vehículo particularmente adecuado para la inyección parenteral es

agua destilada estéril en la cual un mutante de polipéptido FGF21 se formula como una solución isotónica, estéril apropiadamente conservada. Todavía otra preparación puede implicar la formulación de la molécula deseada con un agente, tal como microesferas inyectables, partículas bioerosionables, compuestos poliméricos (tal como ácido poliláctico o ácido poliglicólico), perlas, o liposomas, que proporciona la liberación controlada o sostenida del producto el cual luego se puede administrar por la vía de una inyección de depósito. El ácido hialurónico también se puede usar, y este puede tener el efecto de promover una duración sostenida en la circulación. Otro medio adecuado para la introducción de la molécula deseada incluye dispositivos de suministro de fármaco implantables.

En una modalidad, una composición farmacéutica se puede formular para inhalación. Por ejemplo, un mutante de polipéptido FGF21 se puede formular como un polvo seco para inhalación. Las soluciones de inhalación de mutante de polipéptido FGF21 también se pueden formular con un propelente para el suministro en aerosol. En todavía otra modalidad, las soluciones se pueden nebulizar. La administración pulmonar se describe adicionalmente en la Publicación Internacional No. WO 94/20069, la cual describe el suministro pulmonar de proteínas químicamente modificadas.

También se contempla que ciertas formulaciones se pueden administrar oralmente. En una modalidad de la presente invención, los mutantes de polipéptido FGF21 que se administran en esta forma se pueden formular con o sin esos portadores usados acostumbradamente en la composición de formas de dosificación sólidas tales como tabletas y cápsulas. Por ejemplo, una cápsula

se puede diseñar para liberar la porción activa de la formulación en el punto en el tracto gastrointestinal cuando la biodisponibilidad se maximiza y la degradación pre-sistémica se minimiza. Agentes adicionales se pueden incluir para facilitar la absorción del mutante de polipéptido FGF21. Diluyentes, saborizantes, ceras de punto de fusión bajo, aceites vegetales, lubricantes, agentes de suspensión, agentes desintegrantes de tabletas, y aglutinantes también se pueden emplear.

Otra composición farmacéutica puede implicar una cantidad efectiva de mutantes de polipéptido FGF21 en una mezcla con excipientes no tóxicos que son adecuados para la manufactura de tabletas. Al disolver las tabletas en agua estéril, u otro vehículo apropiado, las soluciones se pueden preparar en forma de dosificación unitaria. Los excipientes adecuados incluyen, pero no se limitan a, diluyentes inertes, tal como carbonato de calcio, carbonato o bicarbonato de sodio, lactosa, o fosfato de calcio; o agentes aglutinantes tal como almidón, gelatina, o acacia; o agentes lubricantes tal como estearato de magnesio, ácido esteárico o talco.

Las composiciones farmacéuticas de mutante de polipéptido FGF21 adicionales serán evidentes para aquellas personas expertas en el campo, que incluyen formulaciones que implican mutantes de polipéptido FGF21 en formulaciones de suministro sostenido o controlado. Técnica para formular una variedad de otros medios de suministro sostenido o controlado, tal como portadores de liposomas, micropartículas bioerosionables o perlas porosas e inyecciones de depósito, también son conocidos por aquellas personas expertas en el campo (*véase, por ejemplo,*

Publicación International No. WO 93/15722, la cual describe la liberación controlada de micropartículas poliméricas porosas para el suministro de composiciones farmacéuticas, y Wischke & Schwendeman, 2008, *Int. J. Pharm.* 364: 298-327, and Freiberg & Zhu, 2004, *Int. J. Pharm.* 282: 1-18, las cuales plantean la preparación y uso de microesferas/micropartículas). Como se describe en la presente, un hidrogel es un ejemplo de una formulación de suministro controlado o sostenido.

Ejemplos adicionales de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices de polímero semipermeables en la forma de artículos formados, por ejemplo, películas o microcápsulas. Las matrices de liberación sostenida pueden incluir poliésteres, hidrogeles, polilacturos (Patente de E.U.A. No. 3,773,919 y Patente Europea No. 0 058 481), copolímeros de ácido L-glutámico y gamma-etil-L-glutamato (Sidman *y colaboradores*, 1983, *Biopolymers* 22:. 547-56), poli(2-hidroxietil-metacrilato) (Langer *y colaboradores*, 1981, *J. Biomed. Mater. Res.* 15: 167-277 y Langer, 1982, *Chem. Tech.* 12: 98-105), etilen-acetato de vinilo (Langer *y colaboradores*, *supra*) o ácido poli-D(-)-3-hidroxibutírico (Patente Europea No. 0 133 988). Las composiciones de liberación sostenida también pueden incluir liposomas, las cuales se pueden preparar mediante cualquiera de varios métodos conocidos en el campo. *Véase, por ejemplo,* Epstein *y colaboradores*, 1985, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.E.A.* 82: 3688-92; y Patentes Europeas Nos. 0 036 676, 0 088 046, y 0 143 949.

La composición farmacéutica de mutante de polipéptido FGF21 que se usa para la administración *in vivo* debería ser típicamente estéril. Esto se puede lograr mediante la filtración

a través de membranas de filtración estériles. Donde la composición se liofiliza, la esterilización que usa este método se puede conducir ya sea antes de, o después, de la liofilización y reconstitución. La composición para la administración parenteral se puede almacenar en forma liofilizada o en una solución. Además, las composiciones parenterales se colocan generalmente dentro de un contenedor que tiene un orificio de acceso estéril, por ejemplo, una bolsa de solución intravenosa o frasquito que tiene un tapón perforable por una aguja de inyección hipodérmica.

Una vez que la composición farmacéutica se ha formulado, se puede almacenar en frasquitos estériles como una solución, suspensión, gel, emulsión, sólido, o como un polvo deshidratado o liofilizado. Estas formulaciones se pueden almacenar ya sea en una forma lista para usar o en una forma (*por ejemplo*, liofilizada) que requiere reconstitución antes de la administración.

En una modalidad específica, la presente invención se dirige a kits para producir una unidad de administración de dosis individual. Los kits pueden contener cada uno tanto un primer contenedor que tiene una proteína seca y como un segundo contenedor que tiene una formulación acuosa. También se incluyen dentro del alcance de esta invención kits que contienen jeringas pre-llenadas de una y múltiples cámaras (*por ejemplo*, jeringas de líquido y liojeringas).

La cantidad efectiva de una composición farmacéutica de mutante de polipéptido FGF21 que se emplea dependerá típicamente, por ejemplo, en el contexto y objetivos terapéuticos. Una persona

experta en el campo apreciará que los niveles de dosificación apropiados para el tratamiento variarán de esta manera dependiendo, en parte, en la molécula suministrada, la indicación por la cual el mutante de polipéptido FGF21 está siendo usado, la vía de administración, y el tamaño (pero corporal, superficie corporal, o tamaño de órgano) y condición (la edad y salud general) del paciente. Por consiguiente, el médico puede titular la dosificación y modificar la vía de administración para obtener el efecto terapéutico óptimo. Una dosificación típica puede variar de aproximadamente 0.1 µg/kg hasta aproximadamente 100 mg/kg o más, dependiendo de los factores mencionados anteriormente. En otras modalidades, la dosificación puede variar de 0.1 µg/kg hasta a aproximadamente 100 mg/kg; o de 1 µg/kg hasta aproximadamente 100 mg/kg; o 5 µg/kg, 10 µg/kg, 15 µg/kg, 20 µg/kg, 25 µg/kg, 30 µg/kg, 35 µg/kg, 40 µg/kg, 45 µg/kg, 50 µg/kg, 55 µg/kg, 60 µg/kg, 65 µg/kg, 70 µg/kg, 75 µg/kg, hasta aproximadamente 100 mg/kg. En todavía otras modalidades, la dosificación puede ser 50 µg/kg, 100 µg/kg, 150 µg/kg, 200 µg/kg, 250 µg/kg, 300 µg/kg, 350 µg/kg, 400 µg/kg, 450 µg/kg, 500 µg/kg, 550 µg/kg, 600 µg/kg, 650 µg/kg, 700 µg/kg, 750 µg/kg, 800 µg/kg, 850 µg/kg, 900 µg/kg, 950 µg/kg, 100 µg/kg, 200 µg/kg, 300 µg/kg, 400 µg/kg, 500 µg/kg, 600 µg/kg, 700 µg/kg, 800 µg/kg, 900 µg/kg, 1000 µg/kg, 2000 µg/kg, 3000 µg/kg, 4000 µg/kg, 5000 µg/kg, 6000 µg/kg, 7000 µg/kg, 8000 µg/kg, 9000 µg/kg o 10 mg/kg.

La frecuencia de dosificación dependerá de los parámetros farmacocinéticos del mutante de polipéptido FGF21 en la formulación que se usa. Típicamente, un médico tendrá que administrar la composición hasta que se alcance una dosificación

que logre el efecto deseado. La composición por lo tanto se puede administrar como una sola dosis, como dos o más dosis (las cuales pueden o no contener la misma cantidad de la molécula deseada) a través del tiempo, o como una infusión continua por la vía de un dispositivo de implantación o catéter. El refinamiento adicional de la dosis apropiada se hace rutinariamente por aquellas personas de experiencia ordinaria en el campo y está dentro del ámbito de las tareas realizadas rutinariamente por ellos. Las dosificaciones apropiadas se pueden cerciorar a través del uso de datos de dosis-respuesta apropiados.

La vía de administración de la composición farmacéutica está de acuerdo con los métodos conocidos, *por ejemplo*, oralmente; a través de la inyección por vías intravenosas, intraperitoneales, intracerebrales (intraparenquimal), intracerebroventricular, intramuscular, intraocular, intraarterial, intraportal, o intralesional; por sistemas de liberación sostenida (los cuales también se pueden inyectar); o mediante dispositivos de implantación. Donde se desean, las composiciones se pueden administrar por inyección de bolo o continuamente por infusión o por un dispositivo de implantación.

Alternativa o adicionalmente, la composición se puede administrar localmente por la vía de la implantación de una membrana, esponja, u otro material apropiado sobre el cual la molécula deseada se ha absorbido o encapsulado. Donde se usa un dispositivo de implantación, el dispositivo se puede implantar dentro de cualquier tejido u órgano adecuado, y el suministro de la molécula deseada puede ser por la vía de infusión, bolo de liberación cronometrada o administración continua.

Con objeto de suministrar el fármaco, por ejemplo, un mutante FGF21 descrito en la presente, a una tasa predeterminada de manera que la concentración de fármaco puede mantenerse a un nivel terapéuticamente efectivo deseado durante un periodo extendido, una variedad de enfoques diferentes pueden emplearse. En un ejemplo, puede emplearse un hidrogel que comprende un polímero tal como una gelatina (por ejemplo, gelatina de bovina, gelatina humana, o gelatina de otra fuente) o un polímero que se presenta naturalmente o uno sintéticamente generado. Cualquier porcentaje de polímero (por ejemplo, gelatina) puede emplearse en un hidrogel, tal como 5, 10, 15 o 20%. La selección de una concentración apropiada puede depender de una variedad de factores, tales como el perfil terapéutico deseado y el perfil farmacocinético de la molécula terapéutica.

Los ejemplos de polímeros que pueden incorporarse en un hidrogel incluyen polietilen glicol ("PEG"), óxido de polietileno, óxido de polietileno-óxido de co-polipropileno, bloque de óxido de co-polietileno o copolímeros aleatorios, alcohol polivinílico, poli(vinil pirrolidinona), poli(aminoácidos), dextrano, heparina, polisacáridos, poliéteres y similares.

Otro factor que puede considerarse cuando se genera una formulación de hidrogel es el grado de reticulado en el hidrogel y el agente reticulado. En una modalidad, el reticulado puede lograrse por medio de una reacción de metracrilación que involucra anhídrido metacrílico. En algunas situaciones, un grado alto de reticulado puede ser deseable mientras que en otras situaciones un grado inferior de reticulado se prefiere. En

algunos casos un grado superior de reticulado proporciona una liberación sostenida más larga. Un grado superior de reticulado puede proporcionar un hidrogel más firme y un periodo más largo sobre el cual el fármaco se administra.

Cualquier relación de polímero a agente reticulado (por ejemplo, anhídrido metacrílico) puede emplearse para generar un hidrogel con propiedades deseadas. Por ejemplo, la relación de polímero a reticulador puede ser, por ejemplo, 8:1, 16:1, 24:1, o 32:1. Por ejemplo, cuando el polímero de hidrogel es gelatina y el reticulador es metacrilato, pueden emplearse relaciones de 8:1, 16:1, 24:1, o 32:1 anhídrido metiacrílica:gelatina.

10. Usos Terapéuticos de los Mutantes de Polipéptido FGF21

Los mutantes de polipéptido FGF21 se pueden usar para tratar, diagnosticar, mejorar o prevenir una variedad de enfermedades, trastornos, o condiciones, que incluyen, pero no se limitan a trastornos metabólicos. En una modalidad, el trastorno metabólico que se trata es diabetes, por ejemplo, diabetes tipo 2. En otra modalidad, el trastorno metabólico es obesidad. Otras modalidades incluyen condiciones o trastornos metabólicos tal como dislipidemia; hipertensión; hepatosteaotosis, tal como esteatohepatitis no alcohólica (NASH); enfermedad cardiovascular, tal como aterosclerosis; y envejecimiento.

En la aplicación, un trastorno o condición tal como diabetes u obesidad se pueden tratar al administrar un mutante de polipéptido FGF21 como se describe en este documento a un paciente en necesidad del mismo en la cantidad de una dosis terapéuticamente efectiva. La administración se puede realizar

como se describe en este documento, tal como mediante inyección IV, inyección intraperitoneal, inyección intramuscular, u oralmente en la forma de una tableta o formación líquida. En la mayoría de situaciones, una dosificación deseada se puede determinar por un médico, como se describe en este documento, y puede representar una dosis terapéuticamente efectiva del polipéptido de mutante FGF21. Será evidente para aquellas personas de experiencia en el campo que una dosis terapéuticamente efectiva del polipéptido mutante FGF21 dependerá, *inter alia*, en el programa de administración, la dosis unitaria de agente administrado, si la molécula o polipéptido de ácido nucleico se administra en combinación con otros agentes terapéuticos, el estado inmune y la salud del recipiente. El término "dosis terapéuticamente efectiva", como se usa en este documento, propone que la cantidad de polipéptido de mutante FGF21 que induce la respuesta biológica o medicinal en un sistema de tejidos, animal, o humano que es buscado por un investigador, doctor en medicina u otro médico, el cual incluye el mejoramiento de los síntomas de la enfermedad o trastorno que se trata.

11. Anticuerpos

Los anticuerpos y fragmentos de anticuerpo que se enlazan específicamente a los polipéptidos mutantes FGF21 de la presente invención pero no se enlazan específicamente a los polipéptidos FGF21 de tipo silvestre se contemplan y están dentro del alcance de la presente invención. Los anticuerpos pueden ser policlonales, incluyendo policlonal monoespecífico; monoclonal (MAbs); recombinante; quiméricos; humanizados, tal como

injertados en la región de determinación de complementariedad (CDR); humanos; de cadena individual; y/o biespecíficos; así como también fragmentos; variantes; o moléculas químicamente modificadas de los mismos. Los fragmentos de anticuerpo incluyen aquellas porciones del anticuerpo que se enlaza específicamente a un epítopo sobre un polipéptido mutante FGF21. Ejemplos de estos fragmentos incluyen fragmentos Fab y F(ab') generados por la escisión enzimática de los anticuerpos de longitud completa. Otros fragmentos de enlace incluyen aquellos generados por técnicas de ADN recombinante, tal como la expresión de plásmidos recombinantes que contienen secuencias de ácidos nucleicos que codifican regiones variables de anticuerpos.

El término "específicamente enlazado", cuando se usa en el contexto de un anticuerpo, significa que el anticuerpo enlaza su objetivo en la presencia de una población heterogénea de proteínas y/u otro material biológico. Más particularmente, cuando un anticuerpo enlaza específicamente su objetivo, esto significa que bajo condiciones de inmunoensayo predeterminadas, el anticuerpo enlaza a su objetivo y no se enlaza en una cantidad importante a otras proteínas presentes en la muestra. Cualquier formato de inmunoensayo conveniente puede emplearse para identificar un anticuerpo que enlaza específicamente su objetivo, por ejemplo, inmunoensayos ELISA de fase sólida. Ver, por ejemplo, Harlow and Lane (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Publications, New York. Los anticuerpos policlonales dirigidos hacia un polipéptido mutante FGF21 generalmente se producen en animales (por ejemplo, conejos o ratones) por medio de múltiples inyecciones subcutáneas

intraperitoneales del polipéptido mutante FGF21 y un adyuvante. Puede ser útil conjugar un polipéptido mutante FGF21 a una proteína portadora que es inmunogénica en la especie que se inmuniza tal como hemocianina de lapa californiana, suero, albúmina, tiroglobulina de bovino, o inhibidor de tripsina de soya. También, agentes de agregación tal como alumbre se usan para mejorar la respuesta inmune. Después de la inmunización, a los animales se les extrae sangre y el suero se somete a ensayo para el título del anticuerpo mutante anti-FGF21.

Anticuerpos monoclonales dirigidos hacia los polipéptidos mutantes FGF21 se pueden producir usando cualquier método que proporcione la producción de moléculas de anticuerpo por las líneas de células continuas en el cultivo. Ejemplos de métodos adecuados para preparar anticuerpos monoclonales incluyen los métodos de hibridoma de Kohler *y colaboradores.*, 1975, *Nature* 256: 495-97 y el método de hibridoma de células B humanas (Kozbor, 1984, *J. Immunol.* 133: 3001; Brodeur *y colaboradores*, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications* 51-63 (Marcel Dekker, Inc., 1987). También se proporcionan por la invención líneas de células de hibridoma que producen anticuerpos monoclonales reactivos con los polipéptidos mutantes FGF21.

Los anticuerpos monoclonales de la invención se pueden modificar para el uso como agentes terapéuticos. En una modalidad, el anticuerpo monoclonal es un anticuerpo "quimérico" en el cual una porción de la cadena pesada (H) y/o ligera (L) es idéntica con u homóloga a una secuencia correspondiente en los anticuerpos derivados de una especie particular o que pertenecen a una clase o subclase de anticuerpo particular, mientras que el

resto de la(s) cadena(s) es/son idénticas con u homólogas a una secuencia correspondiente en los anticuerpos derivados de otra especie que pertenecen a otra clase o subclase de anticuerpo. También se incluyen fragmentos de estos anticuerpos, siempre y cuando exhiban la actividad biológica deseada. *Véase, por ejemplo,* la Patente de E.U.A. No. 4,816,567; Morrison *y colaboradores,* 1985, *Proc. Natl. Acad. Sci. E.U.A.* 81: 6851-55.

En otra modalidad, un anticuerpo monoclonal de la invención es un anticuerpo "humanizado". Los métodos para humanizar anticuerpos no humanos son bien conocidos en el campo. Véase, *por ejemplo,* las Patentes de E.U.A Nos. 5,585,089 y 5,693,762. Generalmente, un anticuerpo humanizado tiene uno o más residuos de aminoácido introducidos dentro de una fuente que no es humana. La humanización se puede realizar, por ejemplo, usando métodos descritos en el campo (véase, *por ejemplo,* Jones *y colaboradores,* 1986, *Nature* 321: 522-25; Riechmann *y colaboradores,* 1998, *Nature* 332: 323-27; Verhoeyen *y colaboradores.*, 1988, *Science* 239: 1534-36), al sustituir por lo menos una porción de una región determinante de complementariedad de roedor para las regiones correspondientes de un anticuerpo humano.

También se abarcan por la invención anticuerpos humanos que enlazan los polipéptidos mutantes FGF21 de la presente invención. El uso de animales transgénicos (*por ejemplo,* ratones) que son capaces de producir un repertorio de anticuerpos humanos en ausencia de la producción de inmunoglobulina endógena estos anticuerpos se producen mediante inmunización con un antígeno derivado de un mutante FGF21 (*es decir,* que tiene por lo menos 6

aminoácidos contiguos), conjugados opcionalmente a un portador. Véase, *por ejemplo*, Jakobovits *y colaboradores.*, 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. E.U.A.* 90: 2551-55; Jakobovits *y colaboradores*, 1993, *Nature* 362: 255-58; Bruggermann *y colaboradores*, 1993, *Year in Immuno.* 7: 33. En un método, estos animales transgénicos se producen al incapacitar los sitios endógenos que codifican las cadenas de inmunoglobulina pesadas y ligeras en los mismos, y al invertir los sitios que codifican las proteínas de cadena pesada y ligera humana dentro del genoma de los mismos. Los animales parcialmente modificados, es decir, animales que tienen menos del complemento total de las modificaciones, entonces se reproducen en forma cruzada para obtener un animal que todas las modificaciones del sistema inmune deseadas. Cuando se administra un inmunógeno, estos animales transgénico producen anticuerpos con secuencia de aminoácidos humanas (en lugar de, *por ejemplo*, de murino), que incluyen regiones variables que son inmunoespecíficas para estos antígenos. Véase, *por ejemplo*, Publicación Internacional Nos. WO 96/33735 y WO 94/02602. Se describen métodos adicionales en la Patente de E.U.A. No. 5,545,807, Publicaciones Internacionales Nos. WO 91/10741 y WO 90/04036, y en la Patente Europea No. 0 546 073. Los anticuerpos humanos también se pueden producir mediante la expresión de ADN recombinante en las células hospederas o mediante la expresión en las células de hibridoma como se describe en este documento.

En una modalidad alternativa, los anticuerpos humanos también se pueden producir de bibliotecas de despliegue de fagos (véase, *por ejemplo*, Hoogenboom *y colaboradores*, 1991, *J. Mol Biol.* 227: 381; Marks *y colaboradores*, 1991, *J. Mol Biol.* 222:

581). Estos procesos imitan la selección inmune a través de la expresión de repertorios de anticuerpos sobre la superficie del bacteriófago filamentoso, y selección subsecuente del fago por su enlace a un antígeno de selección.

Los anticuerpos quiméricos, injertados con CDR y humanizados se producen típicamente mediante métodos recombinantes. Los ácidos nucleicos que codifican los anticuerpos se introducen en la células hospederas y se expresan usando materiales y procedimientos descritos en este documento. En una modalidad, los anticuerpos se producen en células hospederas de mamífero, tales como células CHO. Los anticuerpos monoclonales (*por ejemplo*, humanos) se pueden producir por la expresión de ADN recombinante en las células hospederas o por la expresión en las células de hibridoma como se describe en este documento.

Los anticuerpos mutantes anti-FGF21 de la invención se pueden emplear en cualquier método de ensayo conocido, tal como ensayos de enlace competitivos, ensayos de intercalado directos e indirectos, y ensayos de inmunoprecipitación, (véase, *por ejemplo*, Sola, *Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques* 147-158 (CRC Press, Inc., 1987), incorporados en este documento a manera de referencia en su totalidad) para la detección y cuantificación de los polipéptidos mutantes FGF21. Los anticuerpos se enlazaran a los polipéptidos mutantes FGF21 con una afinidad que es apropiada para el método de ensayo que se emplea.

Para aplicaciones de diagnóstico, en ciertas modalidades, los anticuerpos mutantes anti-FGF21 se pueden etiquetar con una porción detectable. La porción detectable puede

ser cualquiera que sea capaz de producir, ya sea directa o indirectamente, un señal detectable. Por ejemplo, la porción detectable puede ser un radioisótopo, tal como ^{3}H, ^{14}C, ^{32}P, ^{35}S, ^{125}I, ^{99}Tc, ^{111}In, o ^{67}Ga; un compuesto fluorescente o quimioluminiscente, tal como isotiocianato fluoresceína, rodamina, o luciferina; o un enzima, tal como fosfatasa alcalina, β-galactosidasa, o peroxidasa de rábano picante (Bayer *y colaboradores*, 1990, *Meth. Enz.* 184: 138-63).

Los ensayos de enlace competitivos dependen de la capacidad de un estándar etiquetado (*por ejemplo*, un polipéptido mutante FGF21, o una porción inmunológicamente reactiva del mismo) para competir con el analito de muestra de prueba (*por ejemplo*, un polipéptido mutante FGF21) para enlazarse con una porción limitada del anticuerpo mutante anti-FGF21. La cantidad de un polipéptido mutante FGF21 en la muestra de prueba es inversamente proporcional a la cantidad el estándar que se enlaza a los anticuerpos. Para facilitar la determinación de la cantidad de estándar que se enlaza, los anticuerpos se solubilizan típicamente antes o después de la competición, de modo que el estándar y el analitos que se enlazan a los anticuerpos se puede separar convenientemente del estándar y el analito que permanece no enlazado.

Los ensayos de intercalado implican típicamente el uso de dos anticuerpos, cada uno capaz de enlazarse a una porción inmunogénica diferente, o epítopo, de la proteína que se detecta y/o se cuantifica. En un ensayo de intercalado, el analito de muestra de prueba se enlaza típicamente por un primer anticuerpo que se inmoviliza sobre un soporte sólido, y después un segundo

de un polipéptido mutante FGF21 *in vivo* o *in vitro*. En algunas modalidades, el anticuerpo antagonista inhibirá la actividad funcional de un polipéptido mutante FGF21 mediante por lo menos aproximadamente 50%, y preferiblemente por lo menos aproximadamente 80%. En otra modalidad, el anticuerpo mutante anti-FGF21 es capaz de interferir con la interacción entre un polipéptido mutante FGF21 y un receptor FGF21 inhibiendo o eliminando en consecuencia la actividad del polipéptido mutante FGF21 *in vitro* o *in vivo*. Los anticuerpos mutantes anti-FGF21 agonistas o antagonistas se identifican mediante ensayos de clasificación que son bien conocidos en el campo.

La invención también se refiere a un kit que comprende anticuerpos mutantes FGF21 y otros reactivos útiles para detectar niveles de polipéptido mutante FGF21 en muestras biológicas. Estos reactivos pueden incluir una etiqueta detectable, suero de bloqueo, muestras de control positivas y negativas, y reactivos de detección.

EJEMPLOS

Los Ejemplos que siguen son ilustrativos de las modalidades específicas de la invención, y varios usos de los mismos. Se exponen para propósitos explicativos únicamente, y no se deben considerar de ninguna manera como limitantes del alcance de la invención.

anticuerpo se enlaza al analito, formando de esta manera un complejo de tres partes insoluble. Véase, *por ejemplo*, Patente de E.U.A No. 4,376,110. El segundo anticuerpo por si mismo se etiqueta con una porción detectable (ensayos de intercalado directos) o se puede medir usando un anticuerpo de anti-inmunoglobulina que se etiqueta con una porción detectable (ensayo de intercalado indirectos). Por ejemplo, un tipo de ensayo de intercalado es un ensayo inmunoabsorbente enlazado en enzimas (ELISA), en cuyo caso la porción detectable es una enzima.

Los anticuerpos mutantes anti-FGF21 de la presente invención también son útiles para la formación de imágenes *in vivo*. Un anticuerpo etiquetado con una porción detectable se puede administrar a un animal, preferiblemente dentro de torrente sanguíneo, y la presencia y ubicación del anticuerpo etiquetado en el hospedero sometido a ensayo. El anticuerpo se puede etiquetar con cualquier porción que sea detectable en un animal, ya sea por resonancia magnética nuclear, radiología, u otro medio de detección conocido en el campo.

Los anticuerpos mutantes FGF21 de la invención se pueden usar como agentes terapéuticos. Estos agentes terapéuticos son generalmente agonistas o antagonistas, en que ya sea mejoran o reducen, respectivamente, por lo menos una de las actividades biológicas de un polipéptido mutante FGF21. En una modalidad, los anticuerpos antagonistas de la invención son anticuerpos o fragmentos de enlace de los mismos los cuales son capaces de enlazarse específicamente a un polipéptido mutante FGF21 y los cuales son capaces de inhibir o eliminar la actividad funcional

EJEMPLO 1

Preparación de Constructos de Expresión FGF21

Una secuencia de ácidos nucleicos que codifican el polipéptido FGF21 maduro se obtuvo mediante la amplificación de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) usando cebadores que tienen secuencias de nucleótidos que corresponden a los extremos 5′ y 3′ de la secuencia FGF21 madura. La Tabla 2 lista los cebadores que se usaron para amplificar la secuencia FGF21 madura.

Tabla 2

Cebadores de PCR para Preparar el Constructo FGF21

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

Los cebadores usados para preparar el constructo de expresión FGF21 maduro incorporaron sitios de endonucleasa de restricción (el sitio NdeI también comprende una metionina de terminal N para expresión bacteriana) para la clonación direccional de la secuencia dentro de un vector de expresión adecuado (*por ejemplo*, pET30 (Novagen/EMD Biosciences; San Diego, CA) o pAMG33 (Amgen; Thousand Oaks, CA)). El vector de expresión pAMG33 contiene un origen R-100 del número de copias bajo de replicación un promotor *lac* modificado, y un gen de resistencia a la canamicina. El vector de expresión pET30 contiene un origen

derivado de pBR322 de replicación, un promotor T7 inducible, y gen de resistencia a la canamicina. Mientras que la expresión de pAMG33 se descubrió que es más alta, el pET30 se descubrió que es un vector de clonación más confiable. De esta manera, la mayoría de los constructos descritos en la descripción actual primero se generaron en pET30 y luego se clasificaron por eficacia. Las secuencias seleccionadas luego se transfirieron al pAMG33 para amplificación adicional.

La secuencia FGF21 se amplificó en una mezcla de reacción que contiene 40.65 µL de dH_2O, 5µL de Solución Amortiguadora de Reacción PfuUltra II (10x), 1.25 µL de mezcla de dNTP (40 mM - 4 x 10mM), 0.1 µL de Plantilla (100 ng/mL), 1 µL de cebador1 (10 µM), 1 µL de cebador2 (10 µM), y 1 µL de ADN polimerasa HS de fusión PfuUltra II (Stratagene; La Jolla, CA). Las reacciones de amplificación se realizaron por calentamiento durante 2 minutos a 95°C; seguido por 10 diez ciclos a 95°C durante 20 segundos, 60°C durante 20 segundos (con 1°C adicional restado por ciclos), y 72°C durante 15 segundos/kilo base de producto deseado; seguido por 20 ciclos a 94°C durante 20 segundos; 55°C durante 20 segundos, 72°C durante 15 segundos/kilo base de producto deseado; seguido por 72°C durante 3 minutos. Los productos de amplificación se digirieron con las endonucleasas de restricción Ndel, Dpnl, y EcoRI; ligadas sobre un vector adecuado, y luego transformadas en células competentes.

EJEMPLO 2

Purificación de Proteínas FGF21 de Bacterias

En los Ejemplos que siguen, varias proteínas FGF21 que incluyen el polipéptido FGF21 de tipo silvestre, polipéptidos FGF21 truncados, mutantes FGF21 y proteínas de fusión FGF21, se expresaron en un sistema de expresión bacteriano. Después de la expresión, la cual se describe posteriormente, las proteínas FGF21 se purificaron como se describe en este Ejemplo, a menos que se indique de otra manera.

Para purificar el polipéptido FGF21 de tipo silvestre, polipéptidos FGF21 truncados y mutantes FGF21 de cuerpos de inclusión bacterianos, los cuerpos de inclusión doble lavados (DWIBs) se solubilizaron en una solución amortiguadora de solubilización que contiene clorhidrato de guanidina y DTT en solución reguladora Tris en pH 8.5. Luego se mezclaron durante una hora a temperatura ambiente, y la mezcla de solubilización se agregó a una solución amortiguadora replegada que contiene urea, arginina, cisteína, y clorhidrato de cistamina en pH 9.5, y luego se mezclaron durante 24 horas a 5°C (véase, *por ejemplo*, Clarke, 1998, *Curr. Opin. Biotechnol.* 9: 157-63; Mannall *y colaboradores*, 2007, *Biotechnol. Bioeng.* 97: 1523-34; Rudolph *y colaboradores*, 1997, "Folding proteins," Protein Function: A Practical Approach (Creighton, ed., Nueva York, IRL Press) 57-99; and Ishibashi *y colaboradores*, 2005, *Protein Expr. Purif.* 42: 1-6).

Después de la solubilización y replegado, la mezcla se filtró a través de un filtro de 0.45 micras. La acumulación

replegada luego se concentró aproximadamente 10 veces con un casete Pall Omega de peso molecular de 10 KD cortado en una presión de transmembrana (TMP) de 20 psi, y se diafiltró con 3 volúmenes de columna de Tris 20 mM, pH 8.0 en TMP de 20 psi (1.41 kg/cm^2).

La muestra clarificada luego se sometió a cromatografía de intercambio aniónico (AEX) usando una resina Q Sepharose HP. Un gradiente de sal lineal de NaCl 0 a 250 mM en Tris 20 mM se corrió en pH 5.0 a 5°C. Las fracciones pico se analizaron por el SDS- PAGE y se acumularon.

El acumulado de eluido AEX luego se sometió a cromatografía de interacción hidrofóbica (HIC) usando una resina Fenil Sefarosa HP. La proteína se eluyó usando un gradiente lineal de creciente de sulfato de amonio de 0.7 M a 0 M en pH 8.0 y a temperatura ambiente. Las fracciones pico se analizaron por el SDS-PAGE (Laemmli, 1970, *Nature* 227: 680-85) y se acumularon.

La acumulación HIC se concentró con un casete de 0.2 m^2 Pall Omega de peso molecular de 10kD cortado a 7 mg/mL en una TMP de 20 psi (1.41 kg/cm^2). El concentrado se diafiltró con 5 volúmenes de columna de solución amortiguadora de formulación en una TMP de 20 psi (1.41 kg/cm^2), y el concentrado recuperado se diluyó a 5 mg/mL. Finalmente, la solución se filtró a través de una membrana de Posidina 0.2 µM Pall mini-Kleenpac.

Para purificar las proteínas de fusión FGF21 y las proteínas mutantes de fusión FGF21 de los anticuerpos de inclusión bacterianos, los anticuerpos de inclusión doble lavados (DWIBs) se solubilizaron en una solución amortiguadora de solubilización que contiene clorhidrato de guanidina y DTT en

solución amortiguadora Tris en pH 8.5 y luego se mezclaron durante una hora a temperatura ambiente. Luego la mezcla de solubilización se agregó a una solución amortiguadora replegada que contiene urea, arginina, cisteína, y clorhidrato de cistamina en pH 9.5 l, y luego se mezclaron durante 24 horas a 5°C (véase, *por ejemplo*, Clarke, 1998, *Curr. Opin. Biotechnol.* 9: 157-63; Mannall *y colaboradores*, 2007, *Biotechnol. Bioeng.* 97: 1523-34; Rudolph *y colaboradores*, 1997, "Folding proteins," Protein Function: A Practical Approach (Creighton, ed., Nueva York, IRL Press) 57-99; e Ishibashi *y colaboradores*, 2005, *Protein Expr. Purif.* 42: 1-6).

Después de la solubilización y replegado, la mezcla se dializó nuevamente 5 volúmenes de Tris de 20 mM, pH 8.0 usando una tubería de diálisis de 10 kD. El pH del replegado dializado se ajustó a 5.0 con ácido acético al 50%, y luego se clarificó mediante centrifugación durante 30 minutos a 4K.

La muestra clarificada luego se sometió a cromatografía de intercambio aniónico (AEX) usando una resina Sefarosa HPQ. Un gradiente de sal lineal de NaCl 0 a 250 mM en Tris 20 mM luego se corrió en pH 8.0 a 5°C. Las fracciones pico se analizaron por el SDS-PAGE (Laemmli, 1970, *Nature* 227: 680-85) y se acumularon.

La acumulación de material eluído AEX luego se sometió a cromatografía de interacción hidrofóbica (HIC) usando una resina Fenil Sepharose HP. La proteína se eluyó usando un gradiente lineal de creciente de sulfato amonio 0.6 M a 0 M en pH 8.0 a temperatura ambiente. Las fracciones pico se analizaron por el SDS-PAGE y se cumularon.

Después de la etapa de HIC, la acumulación luego se

dializó 60 volúmenes de solución amortiguadora de formulación. La acumulación dializada se concentró a 5 mg/mL usando un Pall Jumbosep. Finalmente, la solución se filtró a través de una membrana de Posidina 0.2 µM Pall mini-Kleenpac.

EJEMPLO 3

Preparación y Expresión de Proteínas FGF21 Truncadas

Los constructos que codifican las proteínas FGF21 truncadas listadas en la Tabla 3 se prepararon mediante amplificación PCR del vector de expresión FGF21 de tipo silvestre como se describe posteriormente (la construcción del vector de expresión FGF21 de tipo silvestre se describe en el Ejemplo 1).

Tabla 3

Truncamientos FGF21

Residuos de aminoácido	Número de Residuos Truncados*
Truncamientos en C terminal	
1–180	1
1–179	2
1–178	3
1–177	4
1–176	5
1–175	6
1–174	7
1–173	8
1–172	9
1–171	10
1–169	12
1–168	13
1–167	14
1–166	15
1–165	16
1–164	17
1–160	21
1–156	25
1–152	29
1–149	32
1–113	68
Truncamientos en N terminal	

000115

2–181	1
3–181	2
4–181	3
5–181	4
6–181	5
7–181	6
8–181	7
9–181	8
Truncamientos en C y N terminales	
5–174	11
7–172	17
9–169	20
9–149	40
15–169	26
15–149	46
15–113	82

*relativo al polipéptido FGF21 maduro

Los constructos de proteína FGF21 truncada se prepararon usando cebadores que tienen secuencias que son homólogas a las regiones cadena arriba y cadena abajo de un codón (o codones) que se suprimen (dando por resultado el truncamiento). Los cebadores usados en estas reacciones de amplificación también proporcionaron aproximadamente 15 nucleótidos de secuencia de solapamiento para permitir la recirculación del producto amplificado, principalmente el vector completo que ahora tiene el mutante o truncamiento deseado.

Un constructo FGF21 truncado ejemplar, que codifica una proteína FGF21 que carece del residuo de histidina en la posición 1 de la secuencia FGF21 madura (*es decir,* el mutante de truncamiento 2-181), se preparó usando los cebadores mostrados en la Tabla 4.

Tabla 4

Cebadores PCR para Preparar El Mutante FGF21 de Truncamiento Ejemplar

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

Los cebadores mostrados en la Tabla 4 permiten la supresión del residuo de histidina como se muestra a continuación, en donde la secuencia superior (SEQ ID NO: 9) es una porción de un polipéptido FGF21 maduro que comprende una metionina N-terminal, la segunda secuencia es el cebador de sentido (SEQ ID NO: 14), la tercera y cuarta secuencias (SEQ ID NOs: 17 y 18) son posiciones de un constructo de expresión FGF21, y la quinta secuencia es el cebador anti-sentido (SEQ ID NO: 6):

MetHisProIleProAspSerSerProLeu

5'-GGAGATATACATATG---CCAATTCCAGATTCTTCTCCATTATT

TTTTGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATG**CAT**CCAATTCCAGATTCTTCTCCATTATT

AAAACAAATTGAAATTCTTCCTCTATATGTATAC**GTA**GGTTAAGGTCTAAGAAGAGGTAATAA

AAAACAAATTGAAATTCTTCCTCTATATGTATAC-5'

Se prepararon constructos de proteína FGF21 truncada usando esencialmente las condiciones PCR descritas en el Ejemplo 1. Los productos de amplificación se digirieron con la endonucleasa de restricción DpnI, y luego se transformaron en células competentes. Los clones resultantes se secuenciaron para

confirmar la ausencia de errores generados por la polimerasa.

Las proteínas FGF21 truncadas se expresaron al transformar las células BL21 (DE3) o BL21 Star (Invitrogen; Carlsbad, CA) con el constructo que codifica una proteína FGF21 truncada particular. Los transformantes se desarrollaron durante toda la noche con aireación limita en un medio TB suplementado con 40 µg/mL de canamicina, se airearon la siguiente mañana, y después de un corto periodo de recuperación, se indujeron en IPTG 0.4 mM. Los mutantes FGF21 se cosecharon mediante centrifugación 18-20 horas después de la inducción.

EJEMPLO 4

Actividad *in vitro* de las Proteínas FGF21 Truncadas

Se realizaron experimentos para identificar proteínas FGF21 truncadas que retienen una actividad FGF21 de tipo silvestre en un ensayo *in vitro* de ELK-luciferasa. La Tabla 5 resume los resultados obtenidos para las proteínas FGF21 que tienen truncamientos en la N-terminal, la C-terminal, o en tanto la N-terminal como la C-terminal. Los ensayos de ELK-luciferasa se realizaron usando un sistema de células de riñón 293T humanas recombinantes, en las cuales las células 293T sobre expresan los constructos reporteros β-Klotho y luciferasa. Estos constructos también contienen secuencias que codifican GAL-ELK1 y 5xUAS-Luc, un reportero de luciferasa conducido por un promotor que contiene cinco copias en tándem del sitio de enlace Gal4. El β-Klotho es un co-receptor que es requerido por FGF21 para la activación de sus receptores FGF y la inducción de la transducción de señal intracelular, la cual

a su vez conduce a la fosforilación Erk y ELK. La actividad de la luciferasa se regula por el nivel de Erk/ELK1 fosforilado, y se induce para supervisar y cuantificar indirectamente la actividad FGF21.

Los ensayos de ELK-luciferasa se realizaron al cultivar las células 293T en presencia de diferentes concentraciones del polipéptido FGF21 de tipo silvestre o mutante FGF21 durante 6 horas, y luego al someter a ensayo los lisados celulares para la actividad de la luciferasa. La Figuras 1A-1B muestran los resultados de un ensayo de actividad de la ELK-luciferasa revisado sobre los mutantes de truncamiento FGF21 7-181 y 8-181 (Figura 1A) y los mutantes de truncamiento FGF21 1-172, 1-171, 1-169, y 1-164 (Figura 1B). La luminiscencia obtenida en los ensayos de ELK-luciferasa para cada uno de los mutantes de truncamiento FGF21 3-181, 4-181, 5-181, 7-181, 8-181, 1-180, 1-178, 1-177, 1-176, 1-175, 1-174, 1-173, 1-172, 9-181, y 1-149 se muestra en la Figura 2.

Los polipéptidos de mutantes FGF21 se compararon con un estándar FGF21 de tipo silvestre y los mutantes muestras una eficacia de por lo menos 50% de la eficacia del FGF21 de tipo silvestre se consideraron por no tener una pérdida de actividad FGF21 y se asignaron un "+" en la Tabla 5.

Tabla 5

Proteínas FGF21 Truncadas: Ensayo *in vitro*

Truncamientos en C terminal		
Residuos de aminoácidos	**Eficacia**	**Actividad (+/-)**
1 - 180	93.2%	+

1 – 178	95.0%	+
1 – 177	112.0%	+
1 – 176	104.8%	+
1 – 174	104.6%	+
1 – 173	96.1%	+
1 – 172	97.5%	+
1 – 171	113.0%	+
1 – 169	84.9%	+
1 – 167	20%	–
1 – 166	20%	–
1 – 165	10%	–
Truncamientos en N terminal		
Residuos de aminoácidos	**Residuos de aminoácidos**	**Residuos de aminoácidos**
2 – 181	112.5%	+
3 – 181	130.3%	+
4 – 181	117.0%	+
5 – 181	119.6%	+
7 – 181	74.2%	+
8 – 181	24.9%	–
9 – 181	12.5%	–

Colectivamente, los resultados presentados en la Tabla 5 indican que las supresiones C-terminal de 14 o más residuos de aminoácido (*es decir*, una proteína FGF21 C-terminalmente truncada que consiste de 1-167 residuos de aminoácido y proteínas más cortas) eliminan la actividad de FGF21. Además, la Tabla 5 indica las supresiones en N terminal de 7 o más residuos de aminoácido (*es decir*, una proteína N-terminalmente truncada que consiste de 8-181 residuos de aminoácido y proteínas más cortas) eliminan la actividad de FGF21. No sorprendentemente, las proteínas FGF21 truncadas que poseen tanto un truncamiento en N terminal de 8 a 14 residuos y un truncamiento en C terminal de 12 o 32 residuos

se descubrieron que carecen de actividad en los ensayos de ELK-luciferasa.

Consistentes con los datos presentados en la Tabla 5, los polipéptidos FGF21 truncados que tienen truncamientos en el N terminal de menos de 7 residuos de aminoácido constituyen modalidades de la presente invención. Similarmente, los polipéptidos FGF21 truncados que tienen truncamientos en el C-terminal de menos de 13 residuos de aminoácido constituyen modalidades de la presente invención.

EJEMPLO 5

Actividad *in vivo* de las Proteínas FGF21 Truncadas

El FGF21 una variedad de actividades biológicas, que incluyen la capacidad de disminuir los niveles de glucosa en la sangre, insulina, triglicéridos o colesterol; reducen el peso corporal; o mejoran la tolerancia a la glucosa, gasto de energía o sensibilidad a la insulina. Los polipéptidos FGF21 truncados se analizaron adicionalmente para la actividad FGF21 *in vivo*, al introducir los polipéptidos FGF21 truncados dentro de ratones ob/ob resistentes a la insulina, y al medir la capacidad de un polipéptido FGF21 truncado particular para disminuir la glucosa en la sangre. El polipéptido FGF21 truncado que se somete a prueba se inyectó intra-peritonealmente en un ratón ob/ob de 8 semanas de edad (Jackson Laboratory), y las muestras de sangre se obtuvieron en varios puntos de tiempo después de una sola inyección, *por ejemplo*, 0, 6, 24, 72, 120, y 168 horas después de la inyección. Los niveles de glucosa en la sangre se midieron con un Glucómetro OneTouch (LifeScan, Inc. Milpitas, CA), y los

resultados se expresaron como un porcentaje del cambio de la glucosa en la sangre relativo con el nivel de línea base en la glucosa en la sangre (*es decir,* en el tiempo 0)

Los resultados de un experimento se proporcionan en la Figura 3, el cual muestra la cantidad de glucosa en la sangre detectada en ratones inyectados con los mutantes de truncamiento FGF21 8-181 y 9-181. Este experimento demostró que las proteínas de fusión FGF21 truncadas que comprenden 8-181 residuos de aminoácido exhiben actividad de disminución de glucosa en la sangre *in vivo* sin embargo la actividad es ligeramente menor que la actividad de FGF21 de tipo silvestre a 3 y 6 horas después de la inyección, pero estas proteínas de fusión FGF21 truncadas que comprenden 9-181 residuos de aminoácido no exhiben esta actividad. De esta manera, el análisis *in vivo* de los polipéptidos FGF21 truncados indicaron que la supresión de hasta 7 aminoácidos de la N-terminal del FGF21 maduro no eliminan la actividad biológica de la molécula (en contraste con el análisis *in vitro,* lo cual sugirió que la supresión de los 7 aminoácidos de la N-terminal del FGF21 maduro eliminará la actividad).

Los diferentes resultados obtenidos con los polipéptidos FGF21 N-terminalmente truncados particulares (*por ejemplo,* FGF21 8-181) en los ensayos *in vitro* e *in vivo* se puede explicar por la interacción del FGF21 con el β-Klotho y el receptor FGF al efectuar la transducción de señal. En particular, el FGF21 activa un complejo de receptor doble que comprende el co-receptor β-Klotho y el receptor FGF (FGFR), el cual inicia una cascada de señalización que implica la tirosina cinasa. La N-terminal del FGF21 se ha mostrado para estar

involucrada en el enlace y activación del FGF21 mientras que la C-terminal del FGF21 es requerida para la interacción del β-Klotho (Yie *y colaboradores.*, 2009 FEBS *Lett.* 583:19-24). El ensayo *in vitro* de ELK-luciferasa se realiza en 293 células de riñón en la cuales el co-receptor β-Klotho se sobre expresa y el FGFR se expresa en niveles normales. La cantidad de FGFR es baja con relación a aquella de β-Klotho y la relación de β-Klotho a FGFR en 293 células por lo tanto no es fisiológica, lo cual puede afectar la formación del complejo receptor y ligar finalmente el enlace y activación del FGFR. El sistema *in vitro* 293 parece que es más vulnerable a los polipéptidos FGF21 N-terminalmente truncados y por lo tanto puede haber producido menos de los resultados de actividad para pocos de los mutantes N-terminalmente truncados sometidos a prueba, tal como FGF21 8-181. De esta manera, al determinar si un mutante FGF21 N-terminalmente truncado particular retuvo la actividad FGF21 de tipo silvestre, la actividad del mutante FGF21 en el ensayo *in vivo* se consideró que es dispositivo. Por consiguiente, los polipéptidos FGF21 truncados que tienen truncamientos en el N-terminal de menos de 8 residuos de aminoácido se abarcan por la invención.

EJEMPLO 6

Preparación y Expresión de las Proteínas de Fusión FGF21 Truncadas

Debido a que la vida media de una proteína se puede incrementar al fusionar la proteína a una secuencia Fc, las proteínas de fusión que comprenden los polipéptidos FGF21

truncados se prepararon y se analizaron. Las proteínas de fusión FGF21 truncadas listadas en la Tabla 6 se prepararon a partir de secuencias FGF21 amplificadas por la PCR Boeing (empalme de genes por la extensión de solapamiento), se prepararon las proteínas de fusión FGF21 tal que la porción Fc del gen IgG1 de inmunoglobulina humana (SEQ ID NO: 11) se fusionó a ya sea la N-terminal o la C terminal de la proteína FGF21.

Tabla 6

Proteínas de Fusión FGF21 Truncadas

Residuos de aminoácidos	**Posición Fc**	**Ligadura**
Truncamientos en C terminal		
1 – 178	$-NH_2$	15
1 – 175	$-NH_2$	14
1–175	-COOH	15
1 – 171	$-NH_2$	15
1–171	-COOH	15
1–170	-COOH	15
Truncamientos en N terminal		
5–181	$-NH_2$	15
5–181	-COOH	15
7–181	$-NH_2$	15
7–181	-COOH	15
Truncamientos en C- y N-terminal		
5 – 175	$-NH_2$	15
5–175	-COOH	15
5 – 171	$-NH_2$	15
5–171	-COOH	15
6–170	-COOH	15
7–178	-COOH	35
7–175	$-NH_2$	15
7–175	-COOH	15

000124

7-174	-COOH	35
7-172	-COOH	35
7-171	$-NH_2$	15
7-171	-COOH	35
7-171	-COOH	15

En particular, los constructos de la proteína de fusión FGF21 (que incluyen aquellos que codifican las proteínas de fusión FGF21 truncadas) se prepararon en una serie de tres reacciones de amplificación usando esencialmente las condiciones de reacción descritas en el Ejemplo 1. En la primera reacción, un par de cebadores se diseñó para producir una secuencia que contiene un sitio de clonación NdeI (incluyendo una metionina de terminal N para expresión bacteriana), región Fc y secuencia de ligadura. En la segunda reacción, un par de cebadores se diseñaron para producir una secuencia que contiene una porción de traslape de la ligadura, una porción de la secuencia de codificación FGF21, y el sitio de clonación EcoRI. Finalmente, en la tercera reacción, un par de cebadores se diseñaron para el propósito de enlazar los productos de las primeras dos reacciones. Un conjunto ejemplar de cebadores para la construcción de Fc-(L15)-FGF21 1-181 se lista en la Tabla 7.

Tabla 7

Cebadores PCR para Preparar un Constructo de Proteína de Fusión FGF21 Ejemplar

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

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

EJEMPLO 7

Actividad *in vivo* de las Proteínas de Fusión FGF21 Truncadas

Las proteínas de fusión que comprenden una secuencia FGF21 truncada fusionada a una secuencia Fc se generaron y se sometieron a ensayo para la actividad *in vivo*. Las proteínas de fusión FGF21 truncadas se prepararon al fusionar una molécula IgG1 Fc ya sea al extremo N-terminal o C-terminal de una proteína FGF21 truncada para formar una secuencia contigua individual

Para distinguir entra las fusiones N-terminal y C-terminal, las proteínas de fusión FGF21 en las cuales la molécula Fc se fusionó al extremo N-terminal de la proteína FGF21 se designan como FGF21-Fc, y las proteínas de fusión en la cual la molécula Fc se fusionó al extremo C-terminal de la proteína FGF21 se designan como FGF21-Fc.

El FGF21 posee una variedad de actividades biológicas, que incluyen la capacidad de disminuir los niveles de glucosa en la sangre, insulina, triglicéridos, colesterol, reducir el peso corporal; o mejorar la tolerancia en la glucosa, gasto de energía o sensibilidad a la insulina. Para estimar la actividad FGF21 *in vivo*, los polipéptidos FGF21, polipéptidos mutantes FGF21, y polipéptidos de fusión FGF21 se introdujeron en ratones ob/ob resistentes a la insulina, y se midió la capacidad de una proteína FGF21 particular ara disminuir los niveles de glucosa en la sangre. El polipéptido FGF21, polipéptido mutante FGF21, o polipéptido de fusión FGF21 que se somete a prueba se inyectó intraperitonealmente en ratones ob/ob de 8 semanas de edad (Jackson Laboratory), y se obtuvieron muestras de sangre en varios puntos de tiempo después de una sola inyección, *por ejemplo*, 0, 6, 24, 72, 120, y 168 horas después de la inyección. Los niveles de glucosa en la sangre se midieron con un Glucómetro OneTouch (LifeScan, Inc. Milpitas, CA), y los resultados se expresaron como un porcentaje de cambio de la glucosa en la sangre relativa con el nivel de línea base de la glucosa en la sangre (*es decir*, en el tiempo 0).

Los resultados de un experimento se proporcionan en la Figura 4, la cual muestra el porcentaje de cambio en los

niveles de glucosa en la sangre observados en ratones inyectados con un control PBS, un control Fc-(L15)-FGF21 que comprende 1-181 residuos de aminoácido o proteínas de fusión Fc-(L15)-FGF21 truncadas que comprenden los residuos de aminoácido 5-181 o 7-181. Este experimento demostró que las proteínas de fusión Fc-(L15)-FGF21 truncadas que comprenden los residuos de aminoácido 5-181 o 7-181 exhiben actividad de disminución en la sangre que es similar a la actividad de Fc-(L15)-FGF21 de tipo silvestre a 6 horas después de la inyección. De esta manera, el análisis *in vivo* de los polipéptidos Fc-(L15)-FGF21 truncados indicó que la supresión de hasta 6 aminoácidos de la N-terminal del FGF21 maduro no afecta la actividad biológica de la molécula. Los análisis *in vivo* indicaron, sin embargo, que la capacidad de los polipéptidos FGF21 truncados de disminuir la glucosa en la sangre se redujo y que los niveles de glucosa en la sangre regresaron a la línea base a 24 horas después de la inyección (los resultados similares se obtuvieron con el FGF21 del tipo silvestre). La actividad *in vivo* corta se descubrió que es un resultado de la degradación proteolítica del FGF21, como se describe en el Ejemplo 8.

Los resultados de otro experimento se proporcionan en la Figura 5, la cual muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucosa en la sangre observados en ratones inyectados con un control PBS, un control FGF21-Fc de tipo silvestre que comprende los residuos de aminoácido 1-181, una proteína de fusión FGF21-Fc truncada que comprende los residuos 1-175, o una proteína Fc-(L15)-FGF21 truncada que comprende los

residuos de aminoácido 1-171. Este experimento demuestra que el FGF21-Fc de tipo silvestre que comprende los residuos de aminoácido 1-181 tiene una actividad de disminución de glucosa sostenida que da por resultado una reducción de los niveles de glucosa en la sangre de aproximadamente 30% durante el período de tiempo de 24 horas a 120 horas después de la inyección. La proteína Fc-(L15)-FGF21 que comprende los residuos de aminoácido 1-171 exhibe una actividad de disminución de glucosa en la sangre retardada evidente únicamente. Sin embargo, la actividad observada es la misma como la actividad de FGF21-Fc de tipo silvestre. La proteína de fusión FGF21-Fc truncada que comprenden los residuos 1-175 no es activa *in vivo* en la disminución de la glucosa en la sangre.

Colectivamente, los experimentos de truncamiento descritos en este documento demuestran que las proteínas de fusión FGF21 truncadas que tienen un truncamiento N-terminal exhiben una actividad de glucosa en la sangre que es similar a aquella de la proteína de fusión FGF21 de tipo silvestre, y además, estas proteínas de fusión FGF21 truncadas en las cuales la molécula Fc se ha fusionado al extremo N-terminal de la proteína FGF21 truncada exhiben más actividad que las proteínas de fusión en las cuales la molécula Fc se ha fusionado al extremo C-terminal de la proteína FGF21 truncada.

EJEMPLO 8

Degradación Observada *in vivo* del FGF21

La degradación FGF21 primero se observó con los constructos de proteína de fusión FGF21 Fc como se describe en el Ejemplo 7. El análisis farmacocinético *in vivo* indicó que el FGF21 humano tiene una vida media corta de aproximadamente 1 hora en ratones debido a la rápida eliminación y a la degradación *in vivo*. Por lo tanto, para prolongar la vida media del FGF21 se fusionó una secuencia Fc al extremo N- o C-terminal del polipéptido FGF21. Sin embargo, la fusión de una región Fc no resolvió completamente el problema de vida media puesto que las proteínas de fusión en las cuales una secuencia Fc se fusionó al extremo N- o C-terminal del polipéptido FGF21 y (y en particular las fusiones FGF21 *es decir*, en las cuales la secuencia Fc se fusiona a la N-terminal del FGF21 maduro), no exhibieron la eficacia *in vivo* esperada, y en lugar se descubrió que mantienen la actividad de disminución de glucosa en la sangre por no más de 24 horas en los ratones ob/ob. Como se describe en la Figura 4, las proteínas de fusión Fc-(L15)-FGF21 redujeron los niveles de glucosa en la sangre por aproximadamente 30-40% a 6 horas después de la inyección, mientras que los niveles de glucosa en la sangre regresaron a los niveles de línea base a 24 horas.

La degradación proteolítica del FGF21 de tipo silvestre se investigó subsecuentemente, y la pérdida rápida de la actividad *in vivo* con las proteínas de fusión Fc-(L15)-FGF21

se descubrió que es el resultado de la degradación *in vivo* de FGF21. La degradación proteolítica conduce a una actividad biológica disminuida de la molécula *in vivo* y de esta manera una vida media efectiva más corta, y tal degradación impacta adversamente el uso terapéutico de la molécula. Por consiguiente, la degradación observada de la propinas de fusión FGF21 Fc condujo a la investigación de la degradación proteolítica de FGF21 *in vivo* y para identificar los mutantes FGF21 que fueron resistentes a esta degradación.

Para determinar los sitios de degradación, el análisis LC-MS y la secuenciación Edman se realizaron en las proteínas de fusión FGF21 humana y FGF21 Fc de fusión, obtenidas en varios puntos de tiempo después de la inyección en ratones C57B6 machos. La secuenciación de Edman ayudó a confirmar si el extremo N-terminal o C-terminal de la proteína se sometió a la degradación. Cuando una secuencia Fc se fusionó a la N-terminal del humano FGF21, la degradación se descubrió que ocurre en el péptido enlazado entre los residuos de aminoácido 151 y 152 y entre los residuos de aminoácido 171 y 172 de la porción FGF21 humana de la molécula de fusión (la numeración de residuos anterior se basa en la secuencia FGF21 madura y en la porción Fc de la proteína de fusión). La degradación en 171 y 172 se descubrió que ocurre primero, y se sigue por la degradación en 151-152. La degradación en 171 y 172 parece que es la misma etapa del límite de velocidad y desempeña una función en la vida media de la molécula. Cuando una secuencia Fc se fusionó a la C-terminal del FGF21, se descubrió que la degradación ocurre en el enlace de péptido

entre los residuos de aminoácido 4 y 5 y entre los residuos de aminoácido 20 y 21. Como resultado de estos experimentos, se determinó que la secuencia Fc parece que protege la porción de la secuencia FGF21 que esta adyacente a la secuencia Fc de la degradación. Un análisis de la degradación *in vivo* de la FGF21 de tipo silvestre y las proteínas de fusión Fc-(L15)-FGF21 se condujeron adicionalmente en monos cynomolgus. Estos estudios confirmaron que el sito de decisión de FGF21 en los residuos de aminoácido 171-172 en el sitio principal de degradación de los monos y que este sitio de degradación se conserva entre el murino y los primates.

EJEMPLO 9

Identificación de los Mutantes Resistentes a la Proteólisis FGF21

Los mutantes FGF21 adecuados se identificaron para determinar experimentalmente las posiciones de la secuencia FGF21 de tipo silvestre que son los sitios de actividad proteolítica principal, y las sustituciones de aminoácidos específicos se introdujeron en estos sitios. Las sustituciones de aminoácidos se basaron en la conservación de secuencia FGF21 con otra especia (como se describe en el Ejemplo 8) y la conservación bioquímica con otros residuos de aminoácido. Una lista de sustituciones de aminoácidos que fueron o se pueden introducir en las proteínas FGF21 de tipo silvestre se proporciona en la Tabla 8, aunque la Tabla 8 es únicamente ejemplar y se pueden hacer otras sustituciones. Los números de las posiciones proporcionadas en la Tabla 8 responden a la posición de residuos en la proteína FGF21 madura, la cual

consiste de 181 residuos de aminoácido

Tabla 8

Residuos Mutados FGF21

Posición del Aminoácido	Residuo Nativo	Mutaciones
19	Arg	Gln, Ile, Lys
20	Tyr	His, Leu, Phe
21	Leu	Ile, Phe, Tyr, Val
22	Tyr	Ile, Phe, Val
150	Pro	Ala, Arg
151	Gly	Ala, Val
152	Ile	His, Leu, Phe, Val
170	Gly	Ala, Asn, Asp, Cys, Gln, Glu, Pro, Ser
171	Pro	Ala, Arg, Asn, Asp, Cys, Glu, Gln, Gly, His, Lys, Ser, Thr, Trp, Tyr
172	Ser	Leu, Thr
173	Gln	Arg, Glu

EJEMPLO 10

Análisis *in vivo* de la Degradación del Fc-(L15)-FGF21 y FGF21-Fc

Se determinó la estabilidad de las proteínas de fusión FGF21 Fc *in vivo* al inyectar ratones con una proteína de fusión, extrayendo la sangre de los ratones en varios puntos de tiempo y al analizar el suero por cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC-MS). En particular, los ratones se inyectaron intraperitonealmente con 10 mg/kg de Fc-(G5)-FGF21 (SEQ ID NO: 107) (expresado en *E. coli* y purificado como se describe en el Ejemplo 2) o FGF21-(G3)-Fc (SEQ ID NO: 105) (expresada en células de mamífero y purificada de acuerdo con los procedimientos

estándares. La sangre se extrajo de los ratones a 6, 24, y 48 horas después de la inyección (Tabla 9) y se recolectó en tubos EDTA pre-tratados con cócteles inhibidores de proteasa (Roche Diagnostics). El plasma se separó al centrifugar las muestras a 12,000xg durante 10 minutos. Las proteínas FGF21 se purificaron por afinidad de la sangre usando una resina de agarosa Fc anti-humana.

Tabla 9

Muestra FGF21

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

Antes de analizar las muestras purificadas por afinidad por el LC-MS, los estándares de proteína Fc-(G5)-FGF21 y FGF21-(G3)-Fc se analizaron como una referencia. Los estándares de proteínas se redujeron ya sea con tris[2-carboxi-etil] fosfina (TCEP) o no se redujeron. Los estándares reducidos y no reducidos se analizaron por el LC-MS usando una columna de 0.3 mm x 30 cm ACE ciano con la pulverización de efluente de columna en un espectrómetro de masas de trampa de iones LCQ Classic. Puesto que los espectrómetros desconvolucionados de las muestras reducidas fueron más limpios, las muestras purificadas por afinidad se redujeron antes del análisis LC-MS.

Las masas observadas para el estándar Fc-(G5)-FGF21 reducido y las muestras D6, D24, y D48 se muestran en la Figura 6A-Figura 6D. Las masas observadas para el estándar FGF21-(G3)-Fc reducido y las muestras E6, E24, y E48 se muestran en la Figura 7A-Figura 7D. Algunos de los materiales eluídos estándares y de muestra se sometieron a la secuenciación Edman a fin de confirmar la N-terminal de las proteína y los fragmentos como se determina por el LC-MS. Los resultados del análisis LC-MS de los estándares y las muestras se proporcionan en la Tabla 10.

Tabla 10

Resultados del Análisis LC-MS y Fragmentos Predichos

Muestra FGF21	Masas Principales Observadas	Fragmento .	¿N-terminal Intacto?
Estándar Fc-(G5)-FGF21	45,339 Da	1-414	Si
D6	45,338 Da44,317 Da	1-4141-404	Si
D24	44,32 1 Da	1-404	Si
D48	44,327 Da42,356 Da	1-404 ?	Si
Estándar FGF21-(G3)-Fc	46,408 Da (glicosilada, GOF)44,964 Da (no glicosilada)	1-4 101-410	Si
E6	45,963 Da (glicosilada, GOF)44,516 Da (no glicosilada)	5-4105-4 10	No
E24	45,963 Da (glicosilada, GOF)44,526 Da (no glicosilada)44,130 Da (glicosilada,	5-4105-41021-410	No

	GOF)		
E48	45,984 Da44,130 Da44,022 Da	5-410?21-410?	No

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

EJEMPLO 11

Preparación y Expresión de los Mutantes FGF21 Resistentes a la Proteólisis y las Proteínas de Fusión

Los constructos que codifican los mutantes FGF21 listados en la Tabla 11 se prepararon por la amplificación PCR del vector de expresión FGF21 de tipo silvestre como se describe posteriormente (la construcción del vector de expresión FGF21 de tipo silvestre se describe en el Ejemplo 1). Cuando una ligadura se incluyó en el constructo, la ligadura usada fue GGGGGSGGGSGGGGS ("L15," SEQ ID NO: 28). La meta de estos experimentos fue generar mutantes FGF21 que sean resistentes a la proteólisis y exhiben vidas medias más prolongadas.

Tabla 11

Mutantes FGF21 Resistentes a la Proteólisis

Mutaciones	Fc	Ligadura
R19I		
R19I	-COOH	L15
R19K		
R19K	-COOH	L15
R19Q		
R19Q	-COOH	L15
R19K, Y20H		
R19K, Y20H	-COOH	L15
R19K, L21I		
R19K, L21I	-COOH	L15
R19K, Y20H, L21I		
R19K, Y20H, L21I	-COOH	L15
Y20F		
Y20F	-COOH	L15
Y20H		
Y20H	-COOH	L15
Y20L		
Y20L	-COOH	L15
Y20H, L21I		
Y20H, L21I	-COOH	L15
L21I		
L21I	-COOH	L15
L21 F		
L21F	-COOH	L15
L21V		
L21V	-COOH	L15
L21Y		
L21Y	-COOH	L15
Y22F		
Y22F	-COOH	L15
Y22I		
Y22I	-COOH	L15
Y22V		

Y22V	-COOH	L15
P150A		
P150A	-NH2	L15
P150R	-NH2	L15
P150A, G151A		
P150A, G151A	-NH2	L15
P150A, I152V		
P150A,I152V	-NH2	L15
P150A, G151A, 1152V		
P150A,G151A,1152V	-NH2	L15
G151A		
G151A	-NH2	L15
G151V		
G151V	-NH2	L15
G151A, 1152V		
G151A,1152V	-NH2	L15
I152F		
I152F	-NH2	L15
I152H		
I152H	-NH2	L15
I152L		
I152L	-NH2	L15
I152V		
G170A		
G170A	-NH2	L15
G170C		
G170C	-NH2	L15
G170D		
G170D	-NH2	L15
G170E		
G170E	-NH2	L15
G170		
G170N	-NH2	L15
G170P		
G170P	-NH2	L15
G170Q		

G170Q	-NH2	L15
G170S		
G170S	-NH2	L15
G170E, P171A		
G170E,P171A	-NH2	L15
G170E, S172L		
G170E,S172L	-NH2	L15
G170E, P171A, S172L		
G170E,P171A,S172L	-NH2	L15
P171A		
P171A	-NH2	L15
P171C	-NH2	L15
P171D	-NH2	L15
P171E	-NH2	L15
P171G	-NH2	L15
P171H	-NH2	L15
P171K	-NH2	L15
P171N	-NH2	L15
P171Q	-NH2	L15
P171S	-NH2	L15
P171T	-NH2	L15
P171W	-NH2	L15
P171Y	-NH2	L15
P171A, S172L		
P171A,S172L	-NH2	L15
S172L	-NH2	L15
S172T		
S172T	-NH2	L15
Q173E		
Q173E	-NH2	L15
Q173R		
Q173R	-NH2	L15

Los constructos mutantes FGF21 se prepararon usando cebadores que tienen secuencias que son homólogas a las regiones cadena arriba y cadena abajo de un codón (o codones) que son

mutados. Los cebadores usados en estas reacciones de amplificación también proporcionaron aproximadamente 15 nucleótidos de secuencia de solapamiento para permitir la recirculación del producto amplificado, principalmente el vector completo que ahora tiene el mutante deseado.

Un constructo mutante FGF21 ejemplar, que codifica un mutante FGF21 que tiene un residuo de ácido glutámico en la posición 170 en lugar del residuo de glicina nativo (*es decir*, el mutante G170E), se preparó usando los cebadores mostrados en la Tabla 12.

Tabla 12

Cebadores de PCR para Preparar el Mutante FGF21 Ejemplar

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

Los cebadores mostrados en la Tabla 12 permiten la sustitución del residuo de lisina con un residuo de ácido glutámico como se muestra posteriormente, en donde la secuencia superior es el cebador de sentido (SEQ ID NO: 23), la segunda y tercera secuencias (SEQ ID NOs: 25 y 27) son porciones de un constructo de expresión FGF21 y la cuarta secuencia es el cebador antisentido (SEQ ID NO: 26):

5'-ATGGTGG**A**ACCTTCCCAGGGCCGAAGC

CTCCTCGGACCCTCTGAGCATGGTG**GGA**CCTTCCCAGGGCCGAAGCCCCA

GAGGAGCCTGGGAGACTCGTACCAC**CCT**GGAAGGGTCCCGGCTTCGGGGT

AGCCTGGGAGACTCGTACCACC**T**TGGAAGG-5'

000140

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

Los mutantes FGF21 se expresaron al transformar las células BL21 (DE3) o BL21 Star (Invitrogen; Carlsbad, CA) con el constructo que codifica un mutante particular. Los transformantes se desarrollaron durante toda la noche con aireación limitada en el medio TB suplementado con 40 µg/mL de canamicina, se airearon la siguiente mañana y después de un corto período de recuperación, se indujeron en IPTG 0.4 mM. Los polipéptidos mutantes FGF21 se cosecharon mediante centrifugación 18-20 horas después de la inducción.

Los mutantes FGF21 también se analizaron para la inmunogenicidad predicha. Las respuestas inmunitarias contra las proteínas se mejoraron mediante el procesamiento de antígenos y la presentación en el sitio de enlace clase II de complejo de histocompatibilidad principal (MHC). Esta interacción es requerida para ayudar a las células T en la maduración de los anticuerpos que reconocen la proteína. Puesto que los sitios de enlace de las moléculas clase II MHC se han caracterizado, es posible predecir si las proteínas tienen secuencias específicas que se pueden enlazar a una serie de alelos humanos comunes. Se

han creado algoritmos informáticos con base en las referencias de literatura y las estructuras de cristal clase II MHC para determinar si las secuencias de péptidos de aminoácido lineales tienen el potencial de romper la tolerancia inmune. El programa de computadora TEPITOPE se usó para determinar si las mutaciones puntuales en los mutantes FGF21 particulares incrementarían las células T específicas de antígeno en una mayoría de humanos. Con base en un análisis de la secuencia de proteínas lineal de cada mutante FGF21, ninguno de los mutantes se predijo para mejorar la inmunogenicidad.

EJEMPLO 12

Impacto de la Secuencia Ligadura sobre la Degradación FGF21

Para determinar si la presencia de una ligadura de aminoácidos más grande entre la secuencia Fc y la secuencia FGF21 afecta la degradación FGF21, se inyectaron ratones con proteínas de fusión FGF21 en las cuales la región Fc se separó de la secuencia FGF21 por una ligadura de 15 aminoácidos que tiene la secuencia GGGGGSGGGSGGGGS (designada "L15", SEQ ID NO: 28), se extrajo sangre de los ratones en varios puntos de tiempo, y el suero se analizó por LC-MS. En particular, los ratones se inyectaron con Fc-(L15)-FGF21 o FGF21-(L15)-Fc (obtenidos de *E. coli*) a 23 mg/kg, se extrajo sangre a 6, 24, y 48 horas, y la sangre extraída se purificó por afinidad usando una resina de agarosa Fc anti-humana.

Antes de analizar las muestras purificadas por el LC-MS, los estándares de proteínas Fc-(L15)-FGF21 y FGF21-(L15)-Fc se analizaron como una referencia. Los estándares de proteínas se

redujeron ya sea con TCEP o no se redujeron. Ambos estándares reducidos y no reducidos se analizaron por LC-MS usando una columna de 0.3 mm x 30 cm de ACE ciano con la pulverización de efluente de columna en un espectrómetro de masas de trampa de iones LCQ Classic. Puesto que los espectros desconvolucionados de las muestras reducidas fueron más limpios, las muestras purificadas por afinidad se redujeron antes del análisis LC-MS.

Las masas observadas para el estándar Fc-(L15)-FGF21 reducido y las muestras purificadas por afinidad correspondientes retiradas en varios puntos de tiempo se muestran en la Figura 8A-Figura 8D. Las masas observadas para el estándar FGF21-(L15)-Fc reducido y las muestras purificadas por afinidad correspondientes retiradas en varios puntos de tiempo se muestran en la Figura 9A-Figura 9D. Algunos de los materiales eluídos estándares y de muestra se sometieron a la secuenciación de Edman a fin de confirmar la N-terminal de las proteínas y asistir en predecir la identidad de los fragmentos observados por LC-MS. Los resultados del análisis LC-MS de los estándares y las muestras y una indicación de los fragmentos predichos se proporcionan en la Tabla 13.

Tabla 13

Resultado del Análisis LC-MS y los Fragmentos Predichos

Muestra FGF21	**Masas observadas principales**	**Porcentaje del total**	**Fragmento**	**¿N-terminal intacta?**
Estándar Fc-(L15)-FGF21	46,002 Da	100%	1-424	Si
Fc-(L15)-	46,000 Da	65%35%	1-4241-	Si

FGF21 6 horas	44,978Da		414	
Fc-(L15)-FGF21 24 horas	44,978 Da 43,022 Da	85%15%	1-4 141-394	Si
Fc-(L15)-FGF21 48 horas	44,976 Da 43,019 Da	60%40%	1-4 141-394	Si
Estándar FGF21-(L15)-Fc	45,999 Da	100%	1-424	Si
FGF21-(L15)-Fc 6 horas	45,870 Da	100%	1-423	Si
FGF21-(L15)-Fc 24 horas	45,869 Da 45,301 Da 43,460 Da	40%35%25%	1-4236-42322-423	Algunas veces
FGF21-(L15)-Fc 48 horas	45,870 Da 45,297 Da 43,461 Da	15%20%65%	1-4236-42322-423	Algunas veces

Como se indica en la Tabla 13, todas las muestras purificadas por afinidad mostraron algún grado de degradación después de únicamente 6 horas de circulación. Después de 24 horas de circulación, los productos principales de Fc-(L15)-FGF21 fueron fragmentos que consisten de residuos de aminoácido 1-414 (85% de la muestra) y 1-394 (15% de la muestra), y los productos principales de FGF21(15)Fc fueron fragmentos que consisten de los residuos de aminoácido 1-423 (40% de la muestra), 6-423 (35% de la muestra), y 22-423 (25% de la muestra). Los puntos de escisión identificados para las proteínas Fc-(L15)-FGF21 y FGF21-(L15)-Fc se muestran en la Figuras 10A y Figura 10B, respectivamente.

EJEMPLO 13

Actividad *in vivo* de los Mutantes Fc-(L15)-FGF21 Resistentes a la Proteólisis a 1-7 Días Después de la Inyección

Como se describe en este documento, la escisión proteolítica de las proteínas de fusión FGF21 Fc depende de la orientación de la secuencia Fc, con el extremo Fc de la proteína de fusión que es más estable que el extremo FGF21 de la proteína de fusión (*es decir*, la porción N-terminal de las proteínas de fusión Fc-(L15)-FGF21 y la porción C-terminal de las proteínas de fusión FGF21-(L15)-Fc se descubrieron que son más estables). Por ejemplo, la escisión se identificó en las posiciones 5 y 21 de FGF21-(L15)Fc y las posiciones 151 y 171 de Fc-(L15)-FGF21.

Como resultado de estas observaciones, se realizó una investigación para identificar mutantes FGF21 resistentes a la proteólisis. El análisis LC-MS de Fc-(L15)-FGF21 demuestra que la degradación proteolítica *in vivo* ocurre primero entre los residuos de aminoácido 171-172, seguido por la degradación entre los residuos de aminoácido 151-152. Al bloquear la degradación proteolítica en la posición 171, la escisión en la posición 151 se puede evitar, prolongando efectivamente la vida media de la molécula. Sin embargo, los mutantes resistentes a la proteólisis en la cual la escisión se evita en la posición 151 aún puede poseer residuos en la posición 171 que son susceptibles al ataque de la proteasa, dando por resultado en consecuencia una molécula que pierde los últimos 10 aminoácidos, los cuales se sabe que se implican en el enlace del co-receptor β-Klotho, el cual es un

determinante de la afinidad del receptor de ligando y la potencia *in vitro* e *in vivo*. Por lo tanto, la mutagénesis de los residuos de aminoácido que circundan la posición 171 en el FGF21 maduro parece que es más crítica para mejorar la estabilidad *in vivo*, potencia y eficacia de la molécula.

La actividad *in vivo* de los mutantes Fc-(L15)-FGF21 resistentes a la proteólisis particulares se sometió a ensayo al inyectar intraperitonealmente ratones ob/ob con un mutante FGF21, al extraer las muestras de sangre de los ratones inyectados a 0, 0.25, 1, 3, 5, y 7 días después de la inyección, y luego al medir los niveles de glucosa en la sangre en las muestras. Los resultados de un experimento se proporcionan en la Figura 11, la cual muestra los niveles de glucosa en la sangre medidos en ratones inyectados con un control PBS, un control Fc-(L15)-FGF21 (SEQ ID NO: 49), o los mutantes Fc-(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO: 51), Fc-(L15)-FGF21 P171A (SEQ ID NO: 53), Fc-(L15)-FGF21 S172L (SEQ ID NO: 55), Fc-(L15)-FGF21 (G170E, P171A, S172L) (SEQ ID NO: 59, o Fc-(L15)-FGF21 G151A (SEQ ID NO: 61). La Figura 12 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de sangre en la glucosa como se determina en este experimento. Este experimento demuestra que los mutantes Fc-(L15)-FGF21 G170E, Fc-(L15)-FGF21 P171A, Fc-(L15)-FGF21 S172L, y Fc-(L15)-FGF21 (G170E, P171A, S172L) exhiben una actividad de disminución de glucosa en la sangre sostenida por hasta 5 días, los cual es superior a la actividad del Fc-(L15)-FGF21 de tipo silvestre. El mutante Fc-(L15)-FGF21 G151A solo mejoró parcialmente la duración de la actividad de disminución de glucosa en la sangre como es comparada con la proteína de fusión Fc-(L15)-FGF21 de tipo

silvestre. Sorprendentemente, aunque el mutante Fc-(L15)-FGF21 S172L no es un mutante resistente a la proteólisis, y por lo tanto tiene un perfil de degradación similar como el polipéptido Fc-(L15)-FGF21 de tipo silvestre, este mutante se descubrió que exhibe una eficacia *in vivo* mejorada como es comparado con el polipéptido Fc-(L15)-FGF21 de tipo silvestre.

Los resultados de otro experimento se proporcionan en la Figura 13, la cual muestra los niveles de glucosa en la sangre medidos en ratones inyectados con un control PBS, un control Fc-(L15)-FGF21, o los mutantes Fc-(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21 (P150A, G151A, I152V) (SEQ ID NO: 65), Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO: 51), Fc-(L15)-FGF21 (G170E, P171A) (SEQ ID NO: 63), o Fc-(L15)-FGF21 (G170E, S172L) (SEQ ID NO: 67). La Figura 14 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucosa en la sangre como se determina en este experimento. Como en el experimento descrito anteriormente, la proteína de fusión Fc-FGF21 de tipo silvestre y el mutante Fc-(L15)-FGF21 (P150A, G151A, I152V) no exhiben una actividad de disminución de glucosa en la sangre sostenida, posiblemente debido a que la degradación en el sitio 171 aún podría ocurrir, y los niveles de glucosa en la sangre en animales inyectados con estas proteínas regresaron en la línea base 24 horas después de la inyección. Sin embargo, el Fc-(L15)-FGF21 G170E, Fc-(L15)-FGF21 (G170E, P171A), o Fc-(L15)-FGF21 (G170E, S172L) exhibieron una actividad de disminución de glucosa en la sangre máxima hasta 5 días después de la inyección, lo cual es superior a la proteína de fusión Fc-(L15)-FGF21 de tipo silvestre y el mutante Fc-(L15)-FGF21 (P150A, G151A, I152V).

Los resultados de otro experimento se proporcionan en

la Figura 15, la cual muestra los niveles de glucosa en la sangre medidos en ratones inyectados con un control PBS o los mutantes Fc-(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO: 51), Fc-(L15)-FGF21 G170A (SEQ ID NO: 69), Fc-(L15)-FGF21 G170C (SEQ ID NO: 71), Fc-(L15)-FGF21 G170D (SEQ ID NO: 73), Fc-(L15)-FGF21 G170N (SEQ ID NO: 75), o Fc-(L15)-FGF21 G170S (SEQ ID NO: 77). La Figura 16 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucosa en la sangre como se determina en este experimento. Todos los mutantes FGF21 sometidos a prueba en este experimento exhibieron una actividad de disminución de glucosa en la sangre sostenida por hasta 5 días después de la inyección.

Los resultados de otro experimento se proporcionan en la Figura 17, la cual muestra los niveles de glucosa en la sangre medidos en ratones inyectados con PBS o los mutantes Fc-(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21 G170E (SEQ ID NO: 51), Fc-(L15)-FGF21 P171E (SEQ ID NO: 79), Fc-(L15)-FGF21 P171H (SEQ ID NO: 81), Fc-(L15)-FGF21 P171Q (SEQ ID NO: 83), Fc-(L15)-FGF21 P171T (SEQ ID NO: 85), o Fc-(L15)-FGF21 P171Y (SEQ ID NO: 87). La Figura 18 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucosa en la sangre como se determina en este experimento. Todos los mutantes FGF21 sometidos a prueba en este experimento exhibieron una actividad de disminución de glucosa en la sangre mejorada cuando se compara con el Fc-FGF21 de tipo silvestre.

000148

EJEMPLO 14

Degradación *In vivo* de los Mutantes Fc-(L15)-FGF21 Resistentes a la Proteólisis de 6 a 120 Horas Después de la Inyección

La estabilidad *in vivo* de los mutantes FGF21 seleccionados se analizó al inyectar ratones con un mutante FGF21, al extraer la sangre de los ratones en varios puntos de tiempo y al analizar el suero por LC-MS. En particular, los ratones se inyectaron con ya sea los mutantes Fc-(L15)-FGF21 G170E, Fc-(L15)-FGF21 P171A, o Fc-(L15)-FGF21 S172L (obtenidos de *E. coli* como se describen en el Ejemplo 2), cada uno de los cuales se diluyó en aproximadamente 180 µL de HCl 10 mM para inyección, y la sangre se extrajo a 6, 24, 48, 72, y 120 horas. Las proteínas FGF21 se purificaron por afinidad de la sangre extraída usando una columna de resina de agarosa Fc anti-humana. Las muestras se eluyeron de la columna usando HCl 10 mM. Todos los constructos FGF21 comprenden una región Fc y una ligadura de 15 aminoácidos en el extremo amino-terminal de la proteína FGF21. Los ratones también se inyectaron con un control FGF21 de tipo silvestre.

Antes de analizar las muestras purificadas por afinidad por el LC-MS, los mutantes FGF21 de tipo silvestre no procesados y FGF21 no procesados se analizaron como una referencia. Todos los estándares y las muestras de punto de tiempo se redujeron con el TCEP, y luego se analizaron por el LC-MS usando una columna de 0.3 mm x 30 cm de ACE ciano con la pulverización de efluente de columna dentro de un espectro de masas de trampa de iones LCQ

Classic. Las muestras purificadas por afinidad se disminuyeron con acetato de amonio, se redujeron con TCEP, y luego se analizaron por el LC-MS como se describe anteriormente.

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

Todas las muestras extraídas a 72 y 120 horas se descubrieron que contienen un componente de peso molecular alto (>200 kDa por el SDS-PAGE no de reducción) de fibrinógeno que es mucho más abundante que la proteína de fusión Fc-(L15)-FGF21 restante. Los resultados del análisis LC-MS de los otros estándares y las muestras se proporcionan en la Tabla 14.

Tabla 14

Resultados del Análisis LC-MS y los Fragmentos Predichos

Muestra FGF21	Masas observadas principales	Porcentaje del total	Fragmento	Edman
Estándar Fc-(L15)-FGF21 WT	45,994 Da	100%	1-424	–
Fc-(L15)-FGF21 WT 6 horas	46,001 Da 44,987 Da	80% 20%	1-424 1-414	No
Fc-(L15)-FGF21 WT 24 horas	44,979 Da	100%	1-414	No
Fc-(L15)-FGF21 WT 48 horas	44,980 Da	100%	1-414	–
Estándar Fc-(L15)-FGF21 G170	46,068 Da	100%	1-424	–
Fc-(L15)-FGF21 G170E 6 horas	46,078 Da	100%	1-424	No
Fc-(L15)-FGF21 G170E 24 horas	46,074 Da 45,761 Da	80% 20%	1-424 1-421	No
Fc-(L15)-FGF21 G170E 48 horas	46,072 Da 45,760 Da	60% 40%	1-424 1-421	No
Estándar Fc-(L15)-FGF21 P171A	45,970 Da	100%	1-424	–
Fc-(L15)-FGF21 P171A 6 horas	45,980 Da	100%	1-424	No
Fc-(L15)-FGF21 P171A 24 horas	45,973 Da 45,657 Da	70% 30%	1-424 1-421	No
Fc-(L15)-FGF21 P171A 48 horas	45,992 Da 45,673 Da	50% 50%	1-424 1-421	No
Estándar Fc-	46,022 Da	100%	1-424	–

(L15)-FGF21 S172L				
Fc-(L15)-FGF21 S172L 6 horas	46,027 Da	100%	1-424	No
Fc-(L15)-FGF21 S172L 24 horas	44,984 Da	100%	1-414	No
Fc-(L15)-FGF21 S172L 48 horas	44,985 Da	100%	1-414	No

Como se indica en la Tabla 14, la degradación del Fc-(L15)-FGF21 de tipo silvestre y el mutante S172L se ven similares, en que después de 24 horas de circulación, el producto principal de la proteína de fusión fue un fragmento que consiste de los residuos de aminoácido 1-414. Los productos de degradación de los mutantes Fc-(L15)-FGF21 G170E y Fc-(L15)-FGF21 P171A también se ven similares en que las muestras extraídas después e 24 horas de circulación contienen 70-80% de proteína intacta (aminoácidos 1-424) y 20-30% de un fragmento que consiste de los residuos de aminoácido 1-421. Aún después de 48 horas, los mutantes Fc-(L15)-FGF21 G170E y Fc-(L15)-FGF21 P171A aún retienen la proteína intacta mientras que muestran un incremento en la cantidad del fragmento que consiste de los residuos de aminoácido 1-421. Como se observa en el análisis anterior de los constructos Fc-FGF21, se detectó la degradación de la porción FGF21 de proteína de fusión y la porción Fc se descubrió que permanece estable. Los sitios de escisión identificados por el Fc-(L15)-FGF21 G170E, Fc-(L15)-FGF21 P171A, y Fc-(L15)-FGF21 S172L de tipo silvestre se muestran en la Figura 23A-Figura 23D, respectivamente.

EJEMPLO 15

Identificación de los Mutantes FGF21 de Reducción de Agregación

Una propiedad del FGF21 de tipo silvestre es su propensión a agregarse. En vista de esta propiedad, se deseó generar mutantes FGF21 que reducen la agregación. Los mutantes FGF21 de reducción de agregación se identificaron sobre la base de dos hipótesis. La primera hipótesis es que, con respecto a FGF21, la agregación (o dimerización) se desencadena por interacciones hidrofóbicas e interacciones van der Waals entre las moléculas FGF21 causadas por los residuos hidrofóbicos que se exponen al medio ambiente de solvente basado en agua hidrofílico. La segunda hipótesis es que estos residuos hidrofóbicos expuestos se pueden sustituir para crear mutaciones puntuales de reducción de agregación en la secuencia de aminoácido FGF21 sin comprometer la actividad FGF21.

Se usó un procedimiento de ingeniería de proteínas racional sistemático para identificar residuos hidrofóbicos expuestos en FGF21. Ya que no se conocían las estructuras de rayos X o RNM de FGF21 que se podrían usar para cuantificar los residuos hidrofóbicos expuestos, una estructura de cristal de rayos X (1.3 A) de alta resolución de FGF19 (IPWA) obtenida de Banco de Datos de Proteína (PDB) se usó para crear un modelo de homología 3D del FGF21 usando un software de modelación MOE (Molecular Operating Environment; Chemical Computing Group; Montreal, Quebec, Canadá). El FGF19 se seleccionó como una plantilla, puesto que entre las proteínas depositadas en el PDB, el FGF19 es la proteína más estrechamente relacionada con el FGF21 en términos de la homología de secuencia de aminoácidos.

La accesibilidad del solvente se calculó por el siguiente método usando MOE. Una primera medición del área superficial (SA1) se define como el área de la superficie accesible del residuo en A^2. Mientras que un residuo de aminoácido particular se presenta en una secuencia primaria de la proteína muchas veces, cada ocurrencia en el residuo puede tener un área superficial diferente debido a las diferencias en, *inter alia*, la proximidad del residuo a la superficie de la proteína. La orientación de la cadena lateral del residuo, y la posición espacial de los residuos de aminoácido adyacentes. Por lo tanto, una segunda medición del área superficial (SA2) se hace en donde el residuo de interés se extrae de la estructura de la proteína junto con ese vecino del residuo, o residuos adyacentes. Estos residuos espacialmente adyacentes son mutados *in silico* a glicinas para remover sus cadenas laterales, y luego se calcula la SA2 para el residuo de interés, proporcionando una medida del área superficial posible total para ese residuo en su conformación particular. Una relación de SA1 a SA2 (SA1/SA2) entonces puede proporcionar una medición del porcentaje del área superficial posible para ese residuo que se expone actualmente.

Varios residuos hidrofóbicos que se exponen altamente al solvente se seleccionaron para el análisis adicional, y las mutaciones puntuales *in silico* se hicieron para estos residuos para reemplazar el residuo seleccionado con los otros residuos de aminoácido de origen natural. Los cambios en la estabilidad térmica en la proteína que resultan de diferentes sustituciones se calcularon usando el modelo FGF21 y el programa basado en la red interactivo CUPSAT (Cologne University Protein Stabilit

Analysis Tools) de acuerdo con las instrucciones proporcionadas en el sitio de la red CUPSAT. Véase Parthiban *y colaboradores*, 2006, *Nucleic Acids Res.* 34: W239-42; Parthiban *y colaboradores*, 2007, BMC *Struct. Biol.* 7:54. Significativamente las mutaciones de desestabilización o hidrofóbicas se excluyeron en el diseño de los mutantes FGF21 de mutación puntual de reducción de agregación. Las sustituciones de estabilización (o, en casos raros, ligeramente de desestabilización) que introducen características hidrofílicas y/o iónicas mejoradas se consideraron como candidatos para los mutantes FGF21 de reducción de agregación.

Un resumen de los datos generados a través de este procedimiento de ingeniería de proteínas racional se proporciona en la Tabla 15, la cual también lista mutantes FGF21 ejemplares esperados que tengan una agregación de proteínas reducida y estabilidad mejorada.

Tabla 15

Efecto Calculado de los Mutantes FGF21 Sobre la Estabilidad

Residuo #	Residuo WT	Mutación	Estabilización (Kcal/mol)
26	A	K	1.25
		E	1.54
		R	2.016
45	A	T	0.66
		Q	0.71
		K	1.8
		E	2.34
		R	1.59
52	L	T	-0.33
58	L	G	0.16

		S	-0.15
		C	1.0
		E	0.08
60	P	A	1.3
		K	1.51
		E	0.66
		R	1.31
78	P	A	0.14
		C	2.48
		R	0.08
		H	0.13
86	L	T	0.18
		C	4.1
88	F	A	2.52
		S	3.08
		K	2.88
		E	1.48
98	L	T	0.49
		Q	0.17
		K	-0.19
		C	3.08
			0.84
			3.4
99	L	C	7.34
		E	2.0
		D	1.01
		R	1.61
111	A	T	0.47
		K	-0.12
129	A	Q	3.93
		K	1.02
		N	3.76
		E	3.01
		D	3.76
		R	1.68
		H	2.9
134	A	K	5.37

		Y	4.32
		E	5.13
		R	6.18
		H	2.86

EJEMPLO 16

Preparación y Expresión de Mutantes FGF21 de Reducción de Agregación y Proteínas de Fusión

Los constructos que codifican los mutantes FGF21 listados en la Tabla 16 se prepararon por la amplificación de PCR del vector de expresión FGF21 de tipo silvestre como se describe en el Ejemplo 11 (la construcción del vector de expresión FGF21 de tipo silvestre se describe en el Ejemplo 1). Las proteínas de fusión se generaron como se describe en este documento, *por ejemplo*, en el Ejemplo 6. Cuando una ligadura se empleó fue GGGGGSGGGSGGGGS ("L15," SEQ ID NO: 28)

Tabla 16

Mutantes FGF21 de Reducción de Agregación

Mutaciones	Fc	ligadura
A26E		
A26K		
A26R		
A45E		
A45K		
A45K	$-NH_2$	L15
A45R	$-NH_2$	L15
A45Q	$-NH_2$	L15
A45T	$-NH_2$	L15
A45K, L98R	$-NH_2$	L15
L52T		
L58C		

000157

L58E		
L58G		
L58S		
P60A		
P60E		
P60K		
P60R		
P78A		
P78C		
P78H		
P78R		
L86C		
L86T		
F88A		
F88E		
F88K		
F88R		
F88S		
L98C		
L98E	$-NH_2$	L15
L98K	$-NH_2$	L15
L98Q	$-NH_2$	L15
L98R		
L98R	$-NH_2$	L15
L99C		
L99D		
L99E		
L99R		
A111K	$-NH_2$	L15
A111T		
A129D		
A129E	$-NH_2$	L15
A129H	$-NH_2$	L15
A129K		
A129N	$-NH_2$	L15
A129R	$-NH_2$	L15

000158

A129Q		
A134E		
A134H	$-NH_2$	L15
A134K		
A134Y		

La agregación de varias proteínas FGF21, que incluyen FGF21 de tipo silvestre, polipéptido FGF21 truncados, mutantes FGF21, y proteínas de fusión FGF21 se sometieron a ensayo por la cromatografía de exclusión de tamaño (SEC). Las muestras que se analizan se incubaron a 4°C, a temperatura ambiente, o 37°C por varios puntos de tiempo, y luego se sometieron al análisis SEC. Los experimentos se realizaron sobre un sistema HPLC Beckman equipado con una columna SEC. Para el FGF21 de tipo silvestre, se usó una columna TOSOHAAS TSK-Gel G2000 SEC con 2x de PBS que contiene alcohol isopropílico al 2% como la fase móvil. Para las proteínas de fusión FGF21 Fc y los polipéptidos mutantes FGF21, se usó una columna TOSOHAAS TSK-Gel G3000 SEC con 2x de PBS como la fase móvil.

EJEMPLO 17

Actividad *In vitro* de los Mutantes FGF21 de Reducción de Agregación

Se realizaron experimentos para identificar mutantes de reducción de agregación que retienen la actividad FGF21 de tipo silvestre en una ensayo *in vitro* de ELK-luciferasa. Los ensayos de ELK-luciferasa se realizaron como se describe en el Ejemplo 4. La Figura 24A-Figura 24C muestran los resultados de un ensayo de actividad de ELK-luciferasa realizado sobre los mutantes FGF21

FGF21 L99R (SEQ ID NO: 109), FGF21 L99D (SEQ ID NO: 111), y FGF21 A111T (SEQ ID NO: 113) (Figura 24A); los mutantes FGF21 FGF21 A129D (SEQ ID NO: 115), FGF21 A129Q (SEQ ID NO: 117), y FGF21 A134K (SEQ ID NO: 119) (Figura 24B); y los mutantes FGF21 FGF21 A134Y (SEQ ID NO: 121), FGF21 A134E (SEQ ID NO: 123), y FGF21 A129K (SEQ ID NO: 125) (Figura 24C). Los resultados de estos experimentos demostraron que algunas de las mutaciones de reducción de agregación no impactaron adversamente la actividad FGF21 como se sometió a ensayo en los ensayos de ELK-luciferasa.

EJEMPLO 18

Preparación y Expresión de los Mutantes de Combinación Fc-(L15)-FGF21 que Muestran Vida Media Más Prolongada y Niveles Más Bajos de Agregación

Una variedad de mutantes de combinación FGF21, que contiene mutaciones mostradas para reducir la agregación así como también para incrementar la vida media al interrumpir la degradación proteolítica, se prepararon y se conjugaron a las moléculas IgG1 Fc (SEQ ID NO: 11). Estos mutantes FGF21 se prepararon esencialmente como se describe en el Ejemplo 11.

EJEMPLO 19

Estudios In vitro de Mutantes Fc-(L15)-FGF21 que Muestran Vida Media Más Prolongada y Niveles Más Bajos de Agregación

Se realizaron experimentos para identificar los mutantes de combinación FGF21 que retienen la actividad FGF21 de tipo silvestre en un ensayo *in vitro* de ELK-luciferasa. Se realizaron ensayos de ELK-luciferasa como se describe en el

Ejemplo 4.

Las Figuras 25A-25D muestran los resultados de un ensayo de actividad de ELK-luciferasa realizados sobre los mutantes Fc-(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21 P171G, Fc-(L15)-FGF21 P171S, y Fc-(L15)-FGF21 P171T (Figura 25A); los mutantes Fc-(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21 P171Y, Fc-(L15)-FGF21 P171W, y Fc-(L15)-FGF21 P171C (Figura 25B); Fc-(L15)-FGF21, Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E), y FGF21 A45K (Figura 25C); y Fc-(L15)-FGF21, Fc-(L15)-FGF21 P171E, y Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E) (Figura 25D). Los resultados de estos experimentos demuestran que las mutaciones dirigidas a mejorar la estabilidad, o tanto la estabilidad como la solubilidad, no comprometieron la actividad *in vitro* como es comparado con el Fc-(L15)-FGF21 de tipo silvestre. Interesantemente, el mutante FGF21 A45K mostró una potencia mejorada relativa con el Fc-(L15)-FGF21 de tipo silvestre.

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

La Figura 26B muestra el cambio en el porcentaje de agregación para un control FGF21 (WT) y FGF21 P78C, FGF21 P78R, FGF21 L86T, FGF21 L86C, FGF21 L98C, FGF21 L98R, FGF21 A111T, FGF21 A129D, FGF21 A129Q, FGF21 A129K, FGF21 A134K, FGF21 A134Y, y FGF21 A134E después de la incubación de 65 mg/mL de proteínas a 4°C durante 1, 6, y 10 dias. Los datos indicaron que el FGF21

000161

L86C, FGF21 L98C, FGF21 L98R, FGF21 A111T, FGF21 A129Q, y FGF21 A129K condujo a una disminución a la agregación de la proteína, comparada con la proteína de tipo silvestre.

La Figura 27 muestra los resultados de un ensayo de actividad de ELK-luciferasa realizados sobre un control FGF21 humano y los mutantes FGF21 FGF21 A45K, FGF21 L52T, y FGF21 L58E. Este experimento demuestra que el mutante FGF21 A45K retiene la eficacia total del FGF21 de tipo silvestre y exhibe una potencia que es aún mayor que el FGF21 de tipo silvestre. Sin embargo, los mutantes FGF21 L52T, y FGF21 L58E muestran una potencia y eficacia reducidas como es comparado con el FGF21 de tipo silvestre.

Las Figuras 28A-28B muestran el cambio en los niveles de agregación para los mutantes Fc-(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21 (6-181, G170E), Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E), Fc-(L15)-FGF21 P171E, Fc-(L15)-FGF21 P171A, Fc-(L15)-FGF21 G170E, y un control FGF21 después de la incubación a 4°C durante 1, 4, y 8 días. Este experimento demuestra que durante el período de 8 días, el mutante Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E) mostró menos agregación que los mutantes Fc-(L15)-FGF21G 170E o Fc-(L15)-FGF21 P171E, pero los tres mutantes mostraron menos agregación que el control Fc-(L15)-FGF21. La Tabla 17 muestra el porcentaje de agregación obtenido para un control Fc-(L15)-FGF21 y el mutante Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E) después de la incubación a 4°C o a temperatura ambiente durante 0, 2, 3, 4, o 7 días.

Tabla 17

Porcentaje de Agregación para el Mutante Fc-FGF21 y Fc-FGF21

Muestra		Día 0	Día 2	Día 3	Día 4	Día 7
Fc-(L15)-FGF21 WT	4°C	1.12	1.71	1.89	2.14	2.32
32 mg/mL	RT	1.12	6.09	7.94	9.57	12.59
Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E)	4°C	0.45	0.77	0.88	1.03	1.24
33 mg/mL	RT	0.45	3.86	5.22	6.62	8.60

EJEMPLO 20

Preparación y Expresión de los Mutantes de Combinación de Fusión FGF21

Como se describe anteriormente, la estabilidad y solubilidad del FGF21 se puede modular a través de la introducción de truncamientos específicos y sustituciones de aminoácidos. Además, la estabilidad FGF21 se puede mejorar adicionalmente al fusionar estas proteínas FGF21 modificadas con la porción Fc del gen IgG1 de de inmunoglobulina humano. Por otra parte, al introducir combinaciones de las modificaciones anteriores, se pueden generar moléculas FGF21 que tienen tanto estabilidad como solubilidad mejoradas. Las secuencias de ácidos nucleicos que codifican los mutantes de combinación FGF21 listados en la Tabla 18 es prepararon usando las técnicas descritas anteriormente. La ligadura empleada fue la ligadura L15, GGGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 28).

000163

Tabla 18

Mutantes de Combinación FGF21

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

La Figura 29 muestra los niveles de glucosa en la sangre medidos en ratones inyectados con los mutantes de combinación Fc-(L15)-FGF21 Fc-(L15)-FGF21 (A45K, G170E), Fc-(L15)-FGF21 (A45K, P171G), o Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G).

En otro experimento el mutante FGF21 Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) se estudió en paralelo con el FGF21 de tipo silvestre y el Fc-(L15)-FGF21. En un experimento, una línea de células 293T recombinantes se cultivó en presencia de diferentes concentraciones de FGF21, Fc-(L15)-FGF21, o Fc-(L15) FGF21 (L98R,

000164

P171G) durante 6 horas. Los lisados celulares luego se sometieron a ensayo para la actividad de luciferasa. Como se muestra en la Figura 30, el Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) tuvo actividad similar al Fc-(L15)-FGF21, indicando que la introducción de las dos mutaciones puntuales no alteraron la actividad *in vitro* de la molécula.

En todavía otro experimento, la estabilidad del Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) a 65 mg/mL se evaluó durante nueve días a dos temperaturas diferentes, principalmente a temperatura ambiente y a 4°C, en paralelo con el FGF21 y Fc-(L15)-FGF21. Después del período de incubación los lisados celulares se analizaron con SEC-HPLC para determinar un perfil de agregación contra tiempo en varias temperaturas. Los datos mostrados en la Figura 31A y Figura 31B indican que la velocidad de la formación de agregación se redujo significativamente en el Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) a temperatura ambiente (triángulos sólidos, línea punteada en la Figura 31A) y a 4°C (triángulos sólidos, línea punteada en la Figura 31B).

EJEMPLO 21

Mutantes FGF21 Resistentes a la Proteólisis que Comprenden Mutaciones C-terminales

También se estudió la estabilidad *in vivo* de los mutantes de combinación. Específicamente, la estabilidad *in vivo* del Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) se comparó con la estabilidad de Fc-(L15)-FGF21 en modelos de murino y cynomolgus. Los resultados se encontraron que son similares en ambas especies. En el estudio de cynomolgus, el Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y Fc-(L15)-FGF21

se inyectaron IV en 23.5 mg/kg y las alícuotas del suero y plasma se recolectaron en los puntos de tiempo a 840 horas después de la dosis. Se analizaron los puntos de tiempo de las 168 horas. Las muestras de punto de tiempo se purificaron por afinidad usando reactivos anti-Fc, luego se analizaron usando la espectrometría de masas MALDI. Los resultados se correlacionaron bien entre los dos análisis.

El análisis de los datos generados usando la inmunoafinidad-MALDI, que recorta el sitio P171 se observó que se elimina en la molécula Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) como resultado de la mutación de P171 a P171 G. Sin embargo, una degradación menor y lenta que da por resultado una pérdida de hasta 3 residuos C-terminales se observó para Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (Figura 32). Las escisiones menores en los tres residuos C-terminales también se observaron con otros mutantes FGF21 después de que el sitio de escisión más susceptible entre los residuos de aminoácido 171 y 172 se bloqueó como se muestra en la 20 y Figura 21. La escisión de 3 residuos C-terminales puede representar el cese de la escisión del extremo C-terminal de la molécula por una carboxipeptidasa en una forma secuencia, residuo a residuo o un ataque de proteasa específica en los residuos de aminoácido 178 y 179 con el recorte no específico en los residuos de aminoácido 179-180 y 180-181. La pérdida de los 2-3 aminoácidos en la C-terminal o podría causar el enlace reducido del β-Klotho y la potencia finalmente disminuida y la actividad *in vivo* de la molécula Véase, *por ejemplo*, Yie *y colaboradores*, 2009, *FEBS Lett.* 583:19-24. Para tratar la degradación del carboxipeptidasa evidente de la C-terminal, se

000166

estudió el impacto de agregar un residuo de aminoácido "tapa" a varios polipéptidos mutantes FGF21. Una variedad de constructos, que incluyen aquellos representados en la Tabla 19, se hicieron y se sometieron a ensayo usando las técnicas descritas en este documento. La Tabla 19 resume los resultados del ensayo de ELK-luciferasa *in vitro*.

Las terminaciones de aminoácidos adecuadas pueden ser de entre 1 y 15 aminoácidos en longitud, por ejemplo 1, 2, 3, 4, 5, 10 o 15 aminoácidos en longitud. Cualquier número y tipo de aminoácido(s) se puede emplear como una tapa, por ejemplo, un residuo de prolina individual, y un residuo de glicina individual, dos residuos de glicina, cinco residuos de glicina, así como también otras combinaciones. Ejemplos adicionales de terminaciones se proporcionan en el presente Ejemplo y en la Tabla 19.

Adicionalmente, para tratar el ataque de proteasa evidente en los residuos de aminoácido 178 y 179, se estudió la mutación de los residuos de aminoácido en la posiciones 179, 180 y 181. Nuevamente, una variedad de constructos, que incluyen aquellos presentados en la Tabla 19, se hicieron y se sometieron a ensayo usando las técnicas descritas en este documento. El impacto de las combinaciones de la terminación y las mutaciones en estos sitios también se exploró. La Tabla 19 resume los constructos ejemplares que se hicieron y se estudiaron en el ensayo de ELK-luciferasa *in vitro*, el cual se realizó como se describe en este documento. Consistente con la terminología usada en este documento, hFc significa una secuencia Fc humana (*es decir*, SEQ ID NO: 11), L15 se refiere a la ligadura L15 (*es decir*, GGGGGSGGGSGGGGS, SEQ ID NO:

28).

Tabla 19

Eficacia y Valores EC50 para los Polipéptidos FGF21 que Comprenden Modificaciones C-terminales

Constructos	EC50 (nM)	Eficacia
huFGF21	0.4	100.0%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G)	2.5	76.1%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, Y179F)	2.6	78.3%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, 1-180)		
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, 1-179)	7.8	77.4%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, A180E)	1.9	79.6%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, S181K)	130	87.9%
GSGSGSGSGS-hFGF21-(L15)-hFc		
MKEDD-hFGF21-(L15)-hFc	834	83.1%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, S181P, P182)	272	69.9%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, A180G)	3-25	76.9%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, S181G)	3-43	77.3%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, L182)		
hFGF21(L98R, P171G, G182)		
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, Y179P)	428	44.4%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R, P171G, Y179G)	61	82.6%
hFc-(L15)-hFGF21(98R,P171G,Y179S)	25.3	74.8%
hFc-(L15)-hFGF21(98R,P171G,Y179A)	43.2	79.6%
hFc-(L15)-hFGF21(98R,P171G,S181T)	3.07	77.6%
hFc-(L15)-hFGF21(98R,P171G,S181A)	2.66	73.5%
hFc-(L15)-hFGF21(98R,P171G,S181G)	3.46	72.6%
hFc-(L15)-hFGF21(98R,P171G,S181P)	33.8	79.5%
hFc-(L15)-hFGF21(98R,P171G,A180P)	617	77.1%
hFc-(L15)-hFGF21(98R,P171G,A180S)	2.18	84.7%
hFGF21(L98R,P171G,GGGGG182-6)		
hFc-(L15)-hFGF21(L98R,P171G,P182)	6.1	85.9%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R,P171G,G182)	6.5	71.1%
hFc-(L15)-hFGF21(1-178,L98T,P171G)	167	63.9%

000168

hFc-(L15)-hFGF21(L98R,P171G,GG182-3)	1941	84.2%
hFc-(L15)-hFGF21(L98R,P171G,GGGGG182-6)	4307	99.7%

La Figura 33 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucosa en la sangre observados en ratones db/db diabéticos (fondo C57B6) inyectados con un control PBS nativo de tipo silvestre FGF21, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y dos moléculas terminadas a las cuales se agregaron ya sea un residuo de prolina o glicina en el extremo C-terminal, *es decir,* Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182P) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182G). Cuando un residuo se agregó a la C-terminal de un polipéptido FGF21 de tipo silvestre o mutante, el residuo es referido por su posición en la proteína resultante. De esta manera, "182G" indica que un residuo de glicina se agregó a la C-terminal de la proteína de tipo silvestre o mutante de 181 residuos maduros. La Figura 33 muestra que el FGF21 nativo disminuyó los niveles de glucosa en la sangre durante 6 horas mientras que tres mutante Fc-FGF21 estudiados mostraron una actividad de disminución de glucosa en la sangre durante por lo menos 120 horas. La molécula Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182P), una molécula que comprende la adición de un residuo de prolina en la C-terminal del componente FGF21 de la molécula de fusión, pareció más potente y dio por resultado niveles de glucosa en la sangre más bajos comparados con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182G).

En un experimento subsecuente, la actividad *in vivo* de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182G) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R,

000169

P171G, 182P) se estudió y se comparo con la actividad *in vivo* de una molécula terminada que comprende una adición de dos glicinas en la C-terminal, principalmente Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182G, 183G). La Figura 34 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucosa en la sangre observados en los ratones ob/ob inyectados con el control PBS, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182G, 183G), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182G) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182P).

Como se muestra en la Figura 34, todas las moléculas estudiadas mostraron una actividad de disminución de glucosa sostenida comparada con el control PBS. Este experimento confirmó los resultados previos (Figura 33) de que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182P) con una adición de prolina en la C-terminal mostraron una eficacia de disminución de glucosa ligeramente mejorada comparada con la molécula sin una terminación de prolina, *por ejemplo* Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). Sin embargo, la adición de dos residuos de glicina en la C-terminal, *por ejemplo* Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, 182G 183G), pareció que reducen la potencia *in vivo* de la molécula y acortan la duración del efecto de disminución de glucosa *in vivo*.

La Figura 35 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucosa en la sangre observados en ratones db/db diabéticos (fondo C57B6) inyectados con el control PBS o los polipéptidos mutantes FGF21 Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, Y179S), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, Y179A), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180S), y Fc-(L15)-FGF21

(L98R, P171G, A180G). Todos los mutantes mostraron una disminución de glucosa similar con duración de acción similar.

La Figura 36 muestra el porcentaje de cambio en los niveles de glucosa en la sangre observados en ratones db/db diabéticos (fondo C57B6) inyectados con el control de vehículo, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, Y179F), y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E). Comparados con los Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, Y 179F) fue menos eficaz en disminuir la glucosa en la sangre. Sin embargo, el Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E), en el cual la alanina en la posición de aminoácidos de 180 se mutó al ácido glutámico, fue más eficaz que el Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y causó una reducción del 20% adicional de los niveles de glucosa en la sangre comparado con el Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). Estos datos sugieren que la mutación A180E puede haber reducido la degradación C-terminal *in vivo* y mejoró en consecuencia la potencia *in vivo* y la eficacia de la molécula.

EJEMPLO 22

Estudio de Monos *Rhesus*

Un constructo Fc-Linker-FGF21 se generó usando la metodología descrita en este documento. El constructo comprendió una secuencia IgG1 Fc (SEQ ID NO: 11) fusionada a la C-terminal a la secuencia de ligadura L15 $(Gly)_5$-Ser-$(Gly)_3$-Ser-$(Gly)_4$-Ser (SEQ ID NO: 28) la cual luego se fusionó en la C-terminal a la N-terminal de una secuencia FGF21 madura (SEQ ID NO: 4), dentro de la cual dos mutaciones, L98R y P171G, se había introducido. Este constructo luego se

expresó y se purificó como se describe en este documento. Una forma dimérica de la proteína se aisló del cual se enlazó por la vía de enlaces de disulfuro intermoleculares entre la región Fc de cada monómero. Esta molécula es referida en el presente Ejemplo 22 como "Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G)" y tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43 y es codifica por SEQ ID NO: 42. En este Ejemplo, FGF21 se refiere a la forma madura de FGF21, principalmente SEQ ID NO: 4.

22.1 Diseño del Estudio

El constructo Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) se administró crónicamente y subcutáneamente ("SC") en monos *Rhesus* macho no diabéticos con un BMI > 35. Los otros dos grupos de monos (n=10 por grupo) se trataron con ya sea FGF21 (*es decir*, SEQ ID NO:4) o un control de vehículo.

Los animales se aclimataron durante 42 días antes de la administración de cualquier compuesto de prueba y luego se dividieron en grupos de 10 y se les administró múltiples inyecciones SC de los compuestos de prueba el artículo de control en una forma ciega, como se representa gráficamente en la Figura 37. En breve, cada animal se inyectó una vez al día con el compuesto vehículo. El FGF21 se administró diariamente, mientras que el Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) se administró semanalmente. Las dosis de Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) y FGF21 se escalaron cada dos días, como se muestra en la Figura 37. El peso corporal y la captación de alimentos se supervisó por todo el estudio. La CRO fue ciega al tratamiento.

Se realizaron dos pruebas de tolerancia a la glucosa orales (OGTTs) antes del inicio del tratamiento. La OGTT1 se usó para clasificar los animales en tres grupos equivalentes que tiene una distribución similar de animales con base en el área bajo la curva (AUC) y el peso corporal. Los resultados del segundo OGTT (OGTT2) se usaron para confirmar la clasificación del primer OGTT (OGTT1). Los monos con perfiles OGTT que fueron inconsistentes de una prueba (OGTT1) a la siguiente (0GTT2) se excluyeron. Los resultados de las OGTTs 1 y 2 se muestran en la Figura 38A y Figura 38B, con las mediciones AUC que mostradas en la Figura 38C. El peso corporal de línea base se muestra en la Figura 38D y la Tabla 20.

Las OGTTs 3, 4, y 5 se realizaron cada 2 semanas al final de cada tratamiento de dosis de dosis baja, media y alta. Las muestras de sangre se recolectaron de animales en ayunas semanalmente y se usaron para medir los niveles de glucosa, insulina, triglicéridos, así como también los niveles del compuesto de prueba. Las muestras de sangre también se recolectaron semanalmente durante el período de lavado de 3 semanas.

Los OGTT1 y OGTT2 de línea base mostraron un perfil de glucosa esperado como se observa en los animales normales, con una glucosa plasmática máxima obtenida a 30 minutos, y demostró AUCs estables para los 3 grupos diferentes.

Los valores de la línea base en ayunas para la química del plasma se muestran en la Tabla 20. Las mediciones de la química del plasma se realizaron en muestras de sangre

recolectadas antes del inicio del tratamiento.

Tabla 20

Valores de la Línea Base para el Peso Corporal, Niveles de Glucosa en el Plasma en Ayunas, Insulina y Triglicéridos de los Tres Grupos de Monos *Rhesus*

	Vehículo	FGF21	Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
N	10	10	10
Peso corporal (kg)	8.5±0.5	8.7±0.4	8.5±0.4
Glucosa en el Plasma (mg/dL)	91.9 ±4.8	94.8 ± 5.3	82.2 ± 3.7
Insulina (pg/mL)	942.6± 121.4	976.1 ±107.7	1023.4 ± 205.1
Triglicéridos (mg/dL)	44.4 ± 4.8	58.6 ± 5.2	71.7 ± 9.8

Se seleccionaron tres niveles de dosis diferentes, y la dosis baja fue 0.1 y 0.3 mg/kg, la dosis media fue 0.3 y 1 mg/kg y la dosis alta fue 1 y 5 mg/kg para FGF21 y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G), respectivamente. Los niveles de dosis se seleccionaron con base en la dosis-respuesta observa en los ratones con un régimen de dosificación con base en la frecuencia anticipada de la inyección en humanos. Las dosis equimolares de FGF21 se usaron para las dosis bajas y medias, y la dosis alta de Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) se elevó a 5 mg/kg (*es decir*, en lugar de 3 mg/kg, lo cual habría sido equimolar a la dosis de 1 mg/kg FGF21).

22.2 Efecto de los Compuestos de Prueba en el Peso Corporal

000174

En este experimento, a fin de medir el efecto de los compuestos de prueba en el peso corporal medido semanalmente, el porcentaje de cambio del peso corporal de la línea base se calculó semanalmente en los tres grupos diferentes de mono *Rhesus*. El peso corporal también se midió durante las tres semanas del período de lavado. Los valores del peso corporal de la línea base para cada grupo que incluyen en la Tabla 20.

El peso corporal se siguió por todo el estudio, tanto antes como después de la administración de los compuestos de prueba. El porcentaje de cambio del peso corporal de la línea base de los animales de vehículo se incrementaron con el tiempo, mientras que el peso corporal de los animales tratados con Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) y FGF21 disminuyeron en una forma dependiente de dosis durante el curso del período de tratamiento de 6 semanas, como se muestra en la Figura 39. Como se observó previamente en los roedores (Xu *y colaboradores*, Diabetes 58(1):250-9 (2009)), el tratamiento con FGF21 disminuyó de manera estadística significativamente el peso corporal. El Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) tuvo una exposición mayor que el FGF21 (Figura 48 y Figura 47, respectivamente), que ofrece una explicación posible para la observación de que el Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171) mostró una disminución del peso corporal más pronunciada que el FGF21.

22.3. Efecto de los Compuestos de Prueba en los Niveles de Insulina

Los niveles de insulina se midieron en las muestras de sangre que habían sido recolectadas después de un ayuno durante

toda la noche o después de una comida de la tarde.

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

Los niveles de insulina en el plasma alimentados se midieron en los monos *Rhesus* durante cinco y seis semanas de tratamiento con ya sea el vehículo o FGF21 durante el tratamiento de dosis alta. Las muestras de sangre alimentadas se extrajeron aproximadamente tres días después de la inyección de Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) y aproximadamente 2 horas después de la última inyección de FGF21. La Figura 40 muestra el efecto del vehículo, FGF21 y Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) en los nieles de insulina en ayunas durante el estudio de nueve semanas total, mientras que la Figura 41 representa los niveles de insulina alimentados determinados de las muestras tomadas durante la semana 5 y 6.

En resumen, en las dos dosis más altas, tanto FGF21 como Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) disminuyeron de manera estadística significativamente los niveles de insulina en el plasma en ayunas y alimentados. La observación de que los niveles de insulina de los animales tratados con FGF21 y Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) se disminuyó sin observar que los niveles de glucosa incrementados es indicativo de sensibilidad a la insulina incrementada.

22.4 Efecto de los Compuestos de Prueba en el OGTT (Glucosa e Insulina)

Tres OGTTs (OGTTs 3, 4 y 5) se realizaron después de que se inició el tratamiento. Los perfiles del nivel de glucosa e insulina OGTT5 se midieron en animales tratados durante 6 semanas con el vehículo, FGF21 o Fc-FGF21(L98R, P171G), que corresponden a las últimas dos semanas del régimen de escalamiento de dosis alta. El GTT5 se condujo a aproximadamente 7 días después de la última inyección de Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G), y aproximadamente 21 horas después de la última inyección de FGF21. Los perfiles de glucosa e insulina de OGTT5 se muestran en la Figura 42 y la Figura 43, respectivamente. Los animales tratados con Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) mostraron una eliminación de glucosa mejorada comparado con los animales tratados con vehículo solamente en la dosis más alta y en el mismo tiempo punto de tiempo medido, como se muestra en la Figura 42. Al final de la última dosis, el Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) mostró la mejora más fuerte en la eliminación de la glucosa. El FGF21 no mostró mejora en la eliminación de glucosa. El Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) tuvo una exposición mayor que el FGF21 (Figura 48 y Figura 47, respectivamente), ofreciendo una explicación posible para la observación de que el Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) mostró un efecto más pronunciado en la eliminación de glucosa que FGF21. Los niveles de insulina durante el OGTT5 se disminuyeron de manera estadística significativamente en el último punto de tiempo medido en los animales tratados con Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) comparado con los animales tratados con el vehículo.

El porcentaje de cambio de AUC de la glucosa de la

línea base se calculó para los tres OGTT (OGTTs 3, 4 y 5) realizados al final de cada una de las dosis baja, media y alta en los tres grupos de los diferentes grupos de monos *Rhesus* como se muestra en la Figura 44. El OGTT5 se condujo aproximadamente siete días después de la última inyección Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) y 21 horas después de la última inyección de FGF21 y mostró que el Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) redujo de manera estadística significativamente la AUC5. Los valores OGTT de línea base para cada grupo se muestran en la Figura 38C.

Los niveles de glucosa en el plasma en ayunas se midieron en los días donde no se realizaron OGTTs. No hubo diferencias estadísticas significativas observadas en los niveles de glucosa en el plasma en ayunas medidos entre los tres grupos de animales.

22.5 Efecto de los Compuestos de Prueba en los Niveles de Triglicéridos

El porcentaje de los niveles de triglicéridos en el plasma en ayunas se calculó en los monos *Rhesus* cada semana en animales tratados con ya sea el vehículo, FGF21 o Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) y durante el período de lavado de 3 semanas. Las muestras de sangre en ayunas se retiraron aproximadamente cinco días después de la última inyección de Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) y aproximadamente 21 horas después de la última inyección de FGF21. Los niveles de triglicéridos se midieron cada semana después de que el tratamiento se inició y el porcentaje de cambios en la línea base se muestra en la Figura 45, los valores de línea base en ayunas se muestran en la Tabla 20.

000173

Como se representa en la Figura 45, los animales tratados con ya sea Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) o FGF21 mostraron una disminución dependiente de dosis en los niveles de triglicéridos, con Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) que tiene el efecto de disminución más grande comparado con FGF21.

La Figura 46 muestra los niveles de triglicéridos en el plasma en las muestras adquiridas de los monos *Rhesus* en un estado de ayuno, durante la quinta y sexta semana del tratamiento con el vehículo o Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) o FGF21. Las muestras de sangre alimentadas se extrajeron aproximadamente 3 días después de la inyección de Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) y aproximadamente 2 horas después de la última inyección de FGF21. Los niveles de triglicéridos en el plasma alimentadnos de los animales tratados con FGF21 y Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) se redujeron de manera estadística significativamente, comparados con los niveles de triglicéridos de los animales tratados con el vehículo (Figura 46).

22.6 Concentración de los Compuestos de Prueba

La exposición de los compuestos de prueba administrados en niveles de dosis molares aproximadamente equivalentes se estimó por todo el período de estudio. La concentración del Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) se midió antes de la dosis, y aproximadamente 5 días después de la inyección. Los niveles de FGF21 se midió antes de la dosis, y a 5, 12, 19, y 26 días. Las muestras de sangre se extrajeron at aproximadamente 21 horas después de la última inyección.

La concentración individual de los compuestos de prueba

en cada uno de los monos se muestra en la Figura 47 y la Figura 48. Como se muestra en la Figura 47, la mayoría de los animales en el grupo tratado con FGF21 tuvo concentraciones abajo del límite de cuantificación. La Figura 48 muestra que los animales en el grupo tratado con Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) tuvo niveles detectables de Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) durante cada fase de dosificación (dos dosis a la semana en la misma potencia de dosis). La concentración promedio para cada fase de dosificación se incrementó a aproximadamente de manera proporcional de dosis de 0.3 a 5 mg/kg para Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G). Existe una acumulación mínima como es demostrado por las concentraciones permanentes después de la primera y segunda dosis a la semana dentro de cada fase de escalamiento de dosis para ambos compuestos. Durante la fase sin tratamiento (período de lavado) los niveles de Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) fueron detectables hasta aproximadamente el día 47 (12 días después de la última dosis) y estuvieron abajo del límite inferior de cuantificación (LLOQ) más tarde.

La exposición de los compuestos de prueba también se supervisó durante cada OGTT. El FGF21 no fue detectable durante las OGTTs 3 y 4, después del tratamiento con FGF21 de dosis baja y media. Sin embargo, los niveles medibles se observaron durante el OGTT5, después del tratamiento con dosis alta. Un incremento proporcional de dosis en los niveles Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) se observó a través del tercero al quinto OGTT con niveles de dosis de escalamiento, como se muestra en la Figura 49.

Los datos de los niveles del compuesto confirman que los animales se expusieron a la cantidad esperada de cada

compuesto, principalmente FGF21 y Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G), de una manera de escalamiento de dosis. Se observó una gran variabilidad en la cantidad de FGF21 medido, lo cual fue un resultado esperado considerando que el muestreo se realizó aproximadamente 21 horas después de la última dosis y la vida media del FGF21 es de aproximadamente 1 hora.

22.7 Conclusiones

El FGF21 disminuyó los niveles de triglicéridos e insulina en el plasma en ayunas y alimentados y disminuyó el peso corporal en las dosis más altas. El Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) mejoró el OGTT y disminuyó los niveles de insulina en la dosis más alta, y la dosis disminuyó dependientemente los niveles de triglicéridos en el plasma en ayunas y alimentados así como también en el peso corporal. Tanto el FGF21 como el Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) disminuyeron una variedad de parámetros metabólicos en los monos *Rhesus* no diabéticos. Las disminuciones del nivel de insulina y triglicéridos fueron idénticos entre FGF21 y Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) cuando los niveles de compuesto circulante estuvieron en un intervalo similar, en la condición alimentada. Debido a sus propiedades mejoradas, el Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) fue superior al FGF21 en la mayoría de los parámetros medidos y se podría administrar una vez a la semana para observar la eficacia en los parámetros metabólicos.

EJEMPLO 23

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

Una fusión Fc que comprende un mutante FGF21, que se unió a un componente Fc IgG1 por una ligadura, se generó. El componente FGF21 de la fusión Fc comprende tres mutaciones de punto preparadas por ingeniería en la secuencia de polipéptido de FGF21, particularmente L98R, P171G, A180E (enumerados basados en la forma madura de FGF21, proporcionados como SEQ ID NO: 4). Esta molécula se construyó al conjugar un Fc humano (SEQ ID NO: 11) a la terminal N del FGF21 de mutante L98R, P171G, A180E (SEQ ID NO: 39) por medio de una ligadura de 15 aminoácidos que comprende la secuencia de GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 31). Esta molécula se disgnó como "Fc-(G4S)3-FGF21(L98R, P171G, A180E)" y su secuencia de aminoácidos de longitud completa se muestra en la Figura 50 y en SEQ ID NO: 47; se codifica por el ácido nucleico de SEQ ID NO:46. La prueba *in vitro* de Fc-(G4S)3-FGF21(L98R, P171G, A180E) mostrada es un estimulador potente de fosforilación Erk en una línea celular recombinante que sobreexpresa β-Klotho. El Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) también muestra afinidad de enlace β-Klotho potenciada comparada con fusión Fc de fusión Fc o FGF21 de tipo natural de FGF21-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:45). Cuando se inyecta en modelos de animal diabéticos, Fc-(G4S)3-FGF21(L98R, P171G, A180E) reduce los niveles de glucosa en la sangre, disminuyendo el peso corporal, y fue adecuado para inyección bisemanal.

23.1

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

Los experimentos se realizaron para examinar si Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) mantiene la actividad similar a la fusión Fc de FGF21 nativo de tipo natural o FGF21 de tipo natural en un ensayo *in vitro* de ELK-luciferasa.

Los ensayos ELK-luciferasa se realizaron usando un sistema de célula de riñón 293T humana recombinante, en el cual las células 293T sobreexpresan β-Klotho y constructos reporteros de luciferasa. El β-klotho es un co-receptor requerido para FGF21 para activar receptores FGF e inducir transducción de señal intracelular, incluyendo fosforilación Erk. Los constructos reporteros de Erk-luciferasa contienen secuencias que codifican GAL4-ELK1 y el reportero de 5xUAS-Luciferasa. El reportero de 5xUAS-Luciferasa se conduce por un promotor que contiene cinco copias tándem del sitio de enlace Gal4. La actividad reportera se regula por el nivel de Erk fosforilado, y se usa para vigilar y cuantificar indirectamente la actividad FGF21.

Los ensayos de ELK-luciferasa se realizaron al cultivar las células 293T en la presencia de concentraciones diferentes de FGF21 de tipo natural, fusión Fc de FGF21 de tipo natural, Fc-L15-FGF21 (L98R, P171G, A180E) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) durante 6 horas, y luego procesar por ensayo los lisados celulares para actividad de luciferasa. Las luminiscencias obtenidas en ensayos de ELK-luciferasa para cada uno de los constructos FGF21 se expresaron en el eje y y las concentraciones de compuesto se expresaron en el eje x.

La Figura 51 muestra la respuesta de dosis de los

compuestos probados en ensayos de Erk-luciferasa. El Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) mantiene la actividad similar comparada con fusión Fc de FGF21 de tipo natural, sugiriendo que una combinación de mutaciones con L98R, P171G y A180E no cambian la bioactividad de FGF21. Comparado con el FGF21 de tipo natural nativo, los constructos de fusión Fc muestran potencia ligeramente reducida y la actividad máxima en este ensayo basado en célula con el co-receptor β-Klotho sobreexpresado.

23.2

Actividad *in vitro* de Fusiones Fc-FGF21(L98R, P171G, A180E) que Comprenden Diferentes Secuencias Ligadoras

Se generó un análogo de fusión Fc similar al fusionar el IgG1 Fc humano a FGF21 (L98R, P171G, A180E) por medio de una secuencia ligadora diferente, GGGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 28). Esta ligadura se designó L15 y la molécula de fusión resultante se designó Fc-L15-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 57). En este experimento, se estudió el efecto de secuencias ligadoras diferentes en la actividad de fusiones Fc-FGF21 (L98R, P171G, A180E).

Se realizaron ensayos de ELK-luciferasa al cultivar las células 293T en la presencia de diferentes concentraciones de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) y Fc-L15-FGF21 (L98R, P171G, A180E) durante 6 horas, y luego se procesaron por ensayo los lisados celulares para actividad de luciferasa. El Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) muestra actividad a Fc-L15-FGF21 (L98R, P171G, A180E), indicando que las secuencias ligadoras diferentes, *por ejemplo*, ligaduras (G4S)3 o L15, no tienen

impacto importante en la bioactividad de fusiones Fc-FGF21.

23.3

Afinidad de enlace *in vitro* de Fc-(G4S)3-FGF21(L98R, P171G, A180E) para β-Klotho en Ensayos de Enlace

El enlace de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) a humano y cyno β-Klotho se probó en un ensayo de enlace de equilibrio de solución Biacore. La afinidad de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) también se comparó con un análogo FGF21 de fusión Fc con sólo mutaciones L98R y P171G, particularmente Fc-L15-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO:43).

La Neutravidina se inmovilizó en un chip CM5 usando acoplamiento de amina. La biotina-FGF21 se capturó en la segunda célula de flujo a ~1500RU. La primera célula de flujo se usó como un control de respaldo. Los mutantes FGF21 en 5x diluciones (0.03~2000 nM) se incubaron con humano 10nM o cyno β-Klotho 25nM en PBS más 0.1mg/ml de BSA, P20 al 0.005% a temperatura ambiente durante 1 hora. El enlace del β-Klotho libre en las soluciones mezcladas se midió al inyectar sobre la superficie de biotina-FGF21. Se determinó la señal de enlace β-Klotho al 100% en la ausencia de mutantes FGF21 en la solución. Una respuesta de enlace β-Klotho disminuida con concentraciones incrementadas de mutantes FGF21 indica que β-Klotho se enlazó a mutantes FGF21 en solución, que bloquea a β-Klotho del enlace a la superficie de biotina-FGF21 inmovilizada. El enlace relativo de la mezcla contra concentración molar de FGF21 se graficó usando GraphPad Prizm 5. El EC_{50} se calculó usando un ajuste no lineal de competencia del sitio en el mismo software.

La Figura 52 muestra los resultados de un ensayo de enlace de equilibrio de solución Biacore de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) y Fc-L15-FGF21 (L98R, P171G) a humano (derecha) y cyno β-Klotho (izquierda). El Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) muestra al menos 2x actividad de enlace mejorada a tanto humano como cyno β-Klotho comparado con Fc-L15-FGF21 (L98R, P171G).

23.4

Eficacia *in vivo* de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) en Ratones *db/db* Diabéticos

Se estudió la cuestión de si Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) puede ejercer efectos benéficos metabólicos, tales como glucosa en la sangre disminuida y peso corporal reducido, en ratones db/db diabéticos. El estudio también se pretendió para examinar la duración y respuesta de dosis de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) después de una inyección sencilla. El Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) en dosis de 0.1, 0.3, 1 y 3 mg/kg se inyectó intraperitonealmente en ratones db/db diabéticos. También se incluyó en el estudio el grupo tratado con un vehículo (Tris 10mM, sacarosa al 2.2%, Sorbitol al 3.3%, pH 8.5). Las muestras de sangre se obtuvieron de cada animal (n=10 por grupo) en línea basal (antes de la inyección), y 6, 24, 72, 120, y 168 horas después de la inyección. Se midieron los niveles de glucosa en la sangre con un Glucómetro OneTouch (LifeScan, Inc. Milpitas, CA). Se midió el peso corporal en línea basal (tiempo 0), 24, 72, 120, y 168 horas después de la inyección.

La Figura 53A muestra los niveles de glucosa en la sangre en ratones db/db en varios puntos de tiempo después de la inyección de vehículo o Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E). El Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) resulta en una disminución dependiente de la dosis en los niveles de glucosa en la sangre en ratones db/db. La reducción de glucosa máxima fue alrededor de 50% de la línea basal o comparada con el grupo tratado con vehículo. El efecto máximo se alcanzó dentro de 6 horas después de la inyeccion y se sostuvo durante 120 horas después de la inyeccion. Los niveles de glucosa en la sangre comienzan a regresar a la línea basal en alrededor de 168 horas. El ED50 estimado, la dosis requerida para alcanzar el efecto máximo medio, para Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) fue aproximadamente 1 mg/kg en ratones db/db.

La Figura 53B muestra el efecto de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) en peso corporal después de una inyección sencilla en ratones db/db. Los resultados se expresan como cambio de peso corporal desde el tiempo 0 (antes de la inyección). Los ratones tratados con vehículo muestran ganancia en peso corporal estable y progresivo durante el periodo de 7 días de estudio. Sin embargo, la tasa de crecimiento de peso corporal se inhibió en ratones tratados con Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) en una manera dependiente de la dosis. A mayor dosis, fue más larga la inhibición de crecimiento. En un ejemplo, Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) despunta la ganancia de peso corporal durante 5 días a 3 mg/kg, 3 días a 1 mg/kg, o 1 día a 0.3 mg/kg. Las tasas de crecimiento se recuperaron posteriormente. El ED50 estimado de Fc-(G4S)3-FGF21

(L98R, P171G, A180E) en reducción de peso corporal fue aproximadamente de 1 mg/kg en este experimento.

23.5

Comparación de eficacia de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) y Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) en Ratones DIO con Frecuencias de Inyección Diferentes

El estudio fue para determinar si Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) puede inyectarse menos frecuentemente que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) pero alcanzar eficacia similar. El estudio se condujo en ratones DIO con Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) dado una vez a la semana (Q7D) o una vez cada dos semanas (Q14D), o Fc-L15-FGF21 (L98R, P171G) administrado dos veces a la semana (BIW), Q7D o Q14D.

Los ratones DIO se prepararon al alimentar ratones C57BL/6 macho de 4 semanas de edad una dieta alta en grasa que contiene 60% de energía de grasa enriquecida con ácidos grasos saturados (D12492, Research Diets, Inc., New Brunswick, NJ). Después de 12 semanas de alimentación de dieta alta en grasa, se midieron los niveles de glucosa en la sangre y peso corporal. Los ratones DIO luego se asignaron aleatoriamente en grupos de vehículo o tratamiento para alcanzar peso corporal y niveles de glucosa en la sangre promedios de línea basal similares. Un total de 7 grupos se incluyeron en el estudio: vehículo administrado en Q7D; Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) administrado en Q7D o Q14D; o Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) administrado en BIW, Q7D o Q14D. La inyección fue intraperitoneal

y el estudio se llevo a cabo durante 31 días. El peso corporal se midió semalmente. Se realizó un GTT en el estudio el día 28 y el estudio se finalizó en el día 31. El diseño del estudio se muestra gráficamente en la Figura 54.

La Figura 55 muestra los perfiles GTT en ratones tratados con vehículo, Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) o Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) en diferentes frecuencias de dosificación. La tolerancia a la glucosa estadísticamente se mejoró de manera importante en ratones tratados con Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) en cualquier dosificación Q7D o Q14D cuando se compara con vehículo, sugiriendo que Fc-(G4S)3-FGF21(L98R, P171G, A180E) es eficaz y adecuado para administración Q14D en ratones DIO. El Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) mejora la tolerancia a la glucosa cuando se administra en BIW o Q7D, pero sin Q14D, sugiriendo que Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) puede ser menos adecuado para inyección Q14D en ratones. La eficacia de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) en Q7D o Q14D se comparó con aquella de Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G) en BIW o Q7D respectivamente, sugiriendo que Fc-(G4S)3-FGF21(L98R, P171G, A180E) puede darse 2 veces menos frecuentemente que Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G).

La Figura 56 muestra cambios de peso corporal de la línea basal (día 0) en ratones tratados con vehículo, Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) o Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) en diferentes frecuencias de dosificación. Los ratones tratados Q7D con Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) pierden peso corporal importante que los ratones tratados BIW con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). El peso corporal se redujo moderadamente en ratones

tratados Q14D con Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) o Q7D con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). No se observó el efecto de peso corporal importante en ratones tratados Q14D con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). El efecto en peso corporal fue consistente con aquel en GTT como se describe arriba, sugiriendo que Fc-(G4S)4-FGF21 (L98R, P171G, A180E) fue eficaz en dosificación Q14D y requiere alrededor de 2 veces menos inyecciones frecuentes que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) para alcanzar el mismo efecto.

EJEMPLO 24

Formulaciones de Hidrogel que Comprenden Mutantes FGF21

Como un agente de formulación para terapéuticos basados en proteína, los hidrogeles ofrecen un número de propiedades deseadas. Por ejemplo, los hidrogeles conservan la estructura y función nativa de la proteína incorporada en el hidrogel. Por lo tanto, son bien tolerados y dependientes del polímero y tipo de reticulado, que pueden ser biodegradables. Adicionalmente, los hidrogeles se han usado previamente de manera exitosa para liberación sostenida de proteínas. En consecuencia, los hidrogeles se investigaron como un método de suministro posible para los mutantes FGF21 descritos en la presente.

Para todos los experimentos descritos en este ejemplo, los hidrogeles se prepararon como sigue. Se preparó una solución de gelatina de bovino (Sigma) al 1.25% en PBS. Se agregó el anhídrido metacrílico de agente reticulado a una relación molar (MA a gelatina) de 16:1, 24:1 o 32:1. La solución resultante se dializó contra agua para remover cualquier metacrilamida no polimerizada para crear un vehículo de hidrogel. Finalmente, el

vehículo de hidrogel se liofilizó y almacenó a 4°C hasta que ya se hizo hidrogeles que comprenden un mutante FGF21. Esta preparacion puede usarse para preparar vehículos de hidrogel basados en gelatina que pueden posteriormente adaptarse para comprender cualquiera de los mutantes FGF21 descritos en la presente.

Luego se prepararon hidrogeles con mutantes FGF21 específicos. Iniciando con un vehículo de hidrogel de gelatina metacrílico, liofilizado al 10%, se prepararon las soluciones. Los vehículos de hidrogel se calentaron y luego centrifugaron para disolver y derretir el vehículo de hidrogel de gelatina MA liofilizada. La proteína FGF21 seleccionada, (FGF21 (L98R, P171G), (SEQ ID NO:37)) en el Ejemplo actual), luego se agregó a la solución de gelatina derretida a una concentración predeterminada. Luego se agregó una solución de reserva TEMED. Luego se agregó una solución de reserva KPS y la solución se mezcló suavemente. Se rellenaron jeringas de 1 ml hasta 200 µl y se permitieron ajustarse durante 1.5 hasta 2 horas a temperatura ambiente. Las jeringas se almacenaron a -20°C y se descongelaron a 4°C durante la noche antes del uso. El vehículo de hidrogel comprende Tris 10mM, sacarosa al 9%, pH8.5 sin agregar el mutante FGF21 se usó como un control.

Para los experimentos *in vivo*, las jeringas se colocaron en una almohadilla de calentamiento a 37°C durante aproximadamente 10 minutos antes de la inyeccion en los animales.

24.1

***Actividad in vitro de* FGF21 (L98R, P171G) Liberado de Hidrogeles**

000191

al 10% con Varias Relaciones de Reticulado

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

Se preparó FGF21 (L98R, P171G) e incorporó en soluciones de gelatina metacrílica al 10% con relaciones de reticulado de gelatina metacrílica en 16:1, 24:1 y 32:1 como se describe. Los hidrogeles luego se dispersaron en una solución amortiguadora *in vitro* para permitir la liberación de FGF21 (L98R, P171G). Los medios se recolectaron después de 100 o 150 horas y se sometieron a ensayos *in vitro* para actividad FGF21 (L98R, P171G). Los ensayos analíticos (por ejemplo, SDS-PAGE, HPLC de exclusión de tamaño, y HPLC de fase inversa) muestran que el FGF21 (L98R, P171G) liberado estuvo intacto en todos los puntos de tiempo.

Se realizaron ensayos de ELK-luciferasa usando un sistema de célula de riñón 293T humana recombinante, en el cual las células 293T sobreexpresan β-Klotho y constructos reporteros de luciferasa. El β-Klotho es un co-receptor que se requiere por FGF21 para activación de sus receptores FGF. Los receptores FGF usados en este ensayo son receptores FGF endógenos expresados en célula de riñón 293T. Los constructos reporteros de luciferasa contienen secuencias que codifican GAL4-ELK1 y un reportero de luciferasa conducido por un promotor que contiene cinco copias tándem del sitio de enlace Gal4 (5xUAS-Luc). La actividad de luciferasa se regula por el nivel Erk/ELK1 fosforilado, y se usa para vigilar y cuantificar indirectamente la actividad FGF21.

Los ensayos de ELK-luciferasa se realizaron al cultivar las células 293T en la presencia de diferentes concentraciones de la forma nativa de FGF21 (L98R, P171G) o FGF21 liberado de hidrogel (L98R, P171G) durante 6 horas, y luego procesando por ensayo los lisados celulares para actividad de luciferasa. La Figura 57 muestra los resultados *in vitro* del ensayo de ELK-luciferasa. El FGF21 (L98R, P171G) liberado de hidrogeles con relaciones reticuladas de gelatina metacrílica en 16:1, 24:1 y 32:1 fue biológicamente activo con actividad equivalente para la forma nativa de FGF21 (L98R, P171G). Los datos demuestran que el hidrogel conserva la estructura y función de la proteína incorporada y el FGF21 liberado (L98R, P171G) está activo y estable aún después de 10-15 horas en el medio.

24.2

Eficacia *in vivo* de Hidrogel FGF21 (L98R, P171G) en Diferentes Relaciones Reticuladas en Ratones ob/ob

El objetivo de este experimento fue determinar si un hidrogel de FGF21 (L98R, P171G) preparado con relaciones reticuladas de gelatina metacrílica en 24:1 y 32:1 proporciona una liberación sostenida de FGF21 biologicamente activo (L98R, P171G) *in vivo* y últimamente resulta en eficacia *in vivo* más larga como se compara con la forma nativa de FGF21 (L98R, P171G). Además, basado en la evaluación de tasas de liberación *in vitro*, se determinó que las relaciones reticuladas superiores de gelatina metacrílica da mejor liberación sostenida del FGF21 incorporado (L98R, P171G). Por lo tanto, otro objetivo de este experimento fue comparar dos hidrogeles FGF21 (L98R, P171G)

000193

preparados con relaciones reticuladas de gelatina metacrílica en 24:1 y 32:1.

El FGF21 posee diversas actividades biológicas, incluyendo la capacidad para disminuir los niveles de glucosa en la sangre, insulina, triglicéridos, o colesterol; reducir el peso corporal; o mejorar la tolerancia a la glucosa, gasto de energía, o sensibilidad a la insulina. Los hidrogeles FGF21 (L98R, P171G) se introdujeron en ratones ob/ob resistentes a la insulina, y se midieron las capacidades del hidrogel FGF21 (L98R, P171G) para disminuir la glucosa en la sangre y reducir el peso corporal. El procedimiento para el *in vivo* fue como sigue.

Los hidrogeles se prepararon usando el procedimiento descrito arriba. A los ratones ob/ob de 8 semanas de edad (Jackson Laboratory) se les afeitó el pelo en el sitio de inyección y se anestesiaron con isoflurano y O_2 justo antes de la inyección. Los hidrogeles (0.2 ml) se inyectaron lentamente bajo la piel y Vetbond se aplicó en el sitio de inyección después de la inyección. El FGF21 de vehículo (Tris 10mM, sacarosa al 9% pH8.5) o nativo (L98R, P171G) también se incluyeron en el experimento y se inyectaron similarmente como hidrogeles. Los animales se regresaron a su jaula después de que despertaron de la anestesia. Las muestras de sangre se obtuvieron antes de la inyeccion y en varios puntos de tiempo después de la inyección, *por ejemplo*, 0, 3, 6, 24, 72, 120, 192 y 264 horas después de la inyección. Se midieron los niveles de glucosa en la sangre con un Glucómetro OneTouch (LifeScan, Inc. Milpitas, CA). También se vigiló el peso corporal.

Las Figuras 58 y 59 resumen los resultados del

experimento. Comparados con el hidrogel de vehículo o control, la forma nativa de FGF21 (L98R, P171G) rápidamente reduce los niveles de glucosa en la sangre en 3 y 6 hr después de la inyección. Sin embargo, la actividad *in vivo* de la forma nativa de FGF21 (L98R, P171G) disminuida y los niveles de glucosa de sangre regresan a la línea basal 24 horas después de la inyección. Los hidrogeles FGF21 (L98R, P171G) resultan en reducción de glucosa en la sangre tan temprano como 3 hr después de la inyección y la actividad se sostuvo hasta 8 días. No hubo diferencia importante entre las relaciones reticuladas en 24:1 o 32:1. Los grupos de hidrogel FGF21 (L98R, P171G) también muestran ganancia de peso corporal disminuida que los ratones tratados con solo vehículo o hidrogel. Estos resultados demuestran que los hidrogeles FGF21 (L98R, P171G) preparados con relaciones de reticulado de gelatina metacrílica en 24:1 y 32:1 son capaces de proporcionar una liberación sostenida de FGF21 biologicamente activo (L98R, P171G) *in vivo* y últimamente resultando en eficacia *in vivo* más larga como se compara con la forma nativa de FGF21 (L98R, P171G).

24.3

Eficacia *in vivo* de Hidrogel FGF21 (L98R, P171G) y FGF21 (L98R, P171G, A180E) en Diferentes Relaciones de Reticulado en Ratones db/B6

Las formulaciones de hidrogel se prepararon usando gelatina de bovino (Sigma) y varios mutantes y constructos FGF21, particularmente FGF21 (L98R, P171G) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E). También se preparó un control de hidrogel. Los

000195

0.2 mL de hidrogel se colocaron enj una jeringa de 1 ml que tiene una aguja 21G.

Los controles de hidrogel e hidrogeles que comprenden un mutante FGF21 se prepararon como se describe arriba. Ratones db/B6 de 8 semanas de edad (Jackson Laboratory) se afeitaron del pelo en el sitio de inyección y se anestesiaron con isoflurano y O_2 justo antes de la inyección. Los hidrogeles (0.2 ml) se inyectaron lentamente bajo la piel y Vetbond se aplicó en el sitio de inyección después de la inyección. El FGF21 de vehículo (Tris 10mM, sacarosa al 9% pH8.5) o nativo (L98R, P171G) también se incluyeron en el experimento e inyectaron similarmente como. Los animales se regresaron a su jaula después de que despertaron de la anestesia. Las muestras de sangre se obtuvieron antes de la inyección y en varios puntos de tiempo después de la inyección, *por ejemplo*, 0, 24, 96, 168, 240, 312 horas después de la inyección. Los niveles de glucosa en la sangre se midieron con un Glucómetro OneTouch (LifeScan, Inc. Milpitas, CA). También se vigiló el peso corporal.

El diseño experimental fue como sigue:

Grupo de animales (n=9 por grupo)

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

B. Hidrogel FGF21 (L98R, P171G) 32:1 (10%) MA:HU4 0.5 mg/ratón (200µl, ~ 10 mg/kg)

C. Hidrogel FGF21 (L98R, P171G) 32:1 (10%) MA:HU4 1.5 mg/ratón (200µl ~ 30 mg/kg)

D. Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (sin hidrogel) 3 mg/kg

000196

Varios parámetros se midieron y los resultados de los experimentos se muestran en las Figuras 60-63. La Figura 60 muestra el cambio de glucosa en la sangre durante el curso del experimento en el día 14, mientras que la Figura 61 muestra el cambio en porcentaje de glucosa en la sangre durante el mismo periodo. La Figura 62 muestra el cambio en peso corporal durante el curso del experimento en el día 14, mientras que la Figura 63 muestra el cambio de porcentaje en el peso corporal durante el mismo periodo.

Los resultados del experimento se muestran gráficamente en las Figuras 60-63 pueden resumirse como sigue:

FGF21 (L98R, P171G) 32:1(10%) MA: HU4 en 10 mg/kg fue eficaz al reducir la glucosa en la sangre en 24 horas después de la inyección y el nivel de glucosa en la sangre regresa a la línea basal entre 4-7 días.

FGF21 (L98R, P171G) 32:1(10%) MA: HU4 en 30 mg/kg fue más eficaz al reducir la glucosa en la sangre que la dosificación 10 mg/kg, y el nivel de glucosa en la sangre se apreció para regresar a la línea basal entre 7-10 días.

Fc-(G4S)3-FGF21(L98R, P171G, A180E) en 3 mg/kg por sí mismo reduce la glucosa en la sangre en 24 horas después de la inyección a un grado que fue similar a FGF21 (L98R, P171G) en 30mg/kg de hidrogeles.

El control de hidrogel (que no comprende un mutante FGF21) no tiene ningún efecto al reducir la glucosa en la sangre.

Los grupos de hidrogel de FGF21 (L98R, P171G) y Fc-(G4S)3-FGF21(L98R, P171G, A180E) (que no se presentó en un

000197

hidrogel) muestra ganancia de peso corporal reducida comparada con ratones tratados con un control de hidrogel.

EJEMPLO 25

Estudio de Monos *Cynomolgus*

Se generaron dos constructos Fc-Ligadura-FGF21 usando metodología descrita en la presente. Un constructo comprende de una secuencia IgG1 Fc (SEQ ID NO: 11) fusionada a la terminal C a una secuencia ligadora $(Gly)_5$-Ser-$(Gly)_3$-Ser-$(Gly)_4$-Ser (SEQ ID NO: 28) que luego se fusionó a la terminal N de una secuencia FGF21 madura (SEQ ID NO: 4), en la cual dos mutaciones, L98R y P171G, se introdujeron. Esta molécula se refiere en el Ejemplo actual como "Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)" (SEQ ID NO: 43). Un segundo constructo comprende una secuencia IgG1 Fc (SEQ ID NO: 11) fusionada a la terminal C a una secuencia ligadora $(Gly)_4$-Ser-$(Gly)_4$-Ser-$(Gly)_4$-Ser (SEQ ID NO: 31) que luego se fusionó a la terminal N de la secuencia FGF21 madura (SEQ ID NO: 4), en la cual tres mutaciones, L98R, P171G, y A180E, se introdujeron. Esta molécula se refiere en el Ejemplo actual como "Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E)" (SEQ ID NO:47). Estos constructos luego se expresaron y purificaron como se describe en la presente, y se aislaron como una forma dimérica de la proteína, cada monómero del cual se ligó por medio de enlaces de disulfuro intermoleculares entre la región Fc de cada monómero.

25.1 Diseño de Estudio

El estudio se condujo en monos *cynomolgus* con características de tolerancia a la glucosa mejorada (IGT). Los

000198

monos fueron de 8-18 años de edad. Sus pesos corporales están en el intervalo desde 5-15 kg y BMI en el intervalo desde 32-70 kg/m2. 44 monos se aclimataron durante 6 semanas antes del inicio de la administración del compuesto. Durante el periodo de aclimatación, los monos se entrenaron 4 veces a la semana durante 4 semanas para familiarizarse con los procedimientos incluyendo dominar la silla, inyección subcutánea (PBS, 0.1 ml/kg), alimentación por sonda (Water, 10 ml/kg), extracción de sangre por muestras de OGTT y no de OGTT. Después de 4 semanas de entrenamiento, se midieron los parámetros metabólicos de plasma y OGTT de línea basal. 40 de los 44 monos se seleccionaron y asignaron aleatoriamente en tres grupos de tratamiento para alcanzar los niveles de línea basal similares de peso corporal, respuesta OGTT AUC, y niveles de triglicérido y glucosa en el plasma.

El estudio se condujo en una forma ciega. Se etiquetaron el vehículo (n=14), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (n=13) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (n=13) como compuesto A, B y C y se administraron una vez a la semana por medio de inyección subcutánea. Los compuestos se dieron en una forma de escala de dosis de niveles bajos (0.3 mg/kg), medios (1 mg/kg) hasta altos (3 mg/kg) y la dosis se aumentó cada tres semanas. Después de 9 semanas de tratamientos con el compuesto, los animales se vigilaron durante 3 semanas adicionales para lavar el compuesto y recuperarlo de los tratamientos. La ingesta alimenticia, peso corporal, química clínica y OGTT se vigilaron a lo largo del estudio. La ingesta alimenticia se midió cada comida. El peso corporal se midió semanalmente. Las muestras de

sangre se recolectaron semanalmente 5 días después de cada inyección para medir los niveles de glucosa, triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL y LDL. Las OGTTs se condujeron cada tres semanas después del inicio de los tratamientos (al final de cada nivel de dosis). El día de inicio del tratamiento se designa como 0 y el plan del estudio detallado se muestra en la Figura 64.

Los resultados mostrados en este ejemplo ejemplo son datos recolectados al final de 9 semanas de tratamiento.

25.2 Efecto de los Compuestos de Prueba en Ingesta Alimenticia

Los animales se alimentaron dos veces al día, con cada animal que recibió 120 g de alimento formulado establecido durante el periodo de aclimatación. El alimento restante se removió y pesó después de cada comida para calcular la ingesta alimenticia. Los tiempos de alimentación fueron de 8:00 AM a 8:30 AM (±30 minutos) y luego de 4:30PM a 5:00PM (±30 minutos). Para producir golosinas, se suministró manzana (150 g) a cada animal de 11:30 a 12:30 PM (±30 minutos) cada día.

Comparado con el vehículo, tanto Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) como Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) reducen la ingesta alimenticia en monos (Figuras 65, 66 y 67). El Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) inhibe la ingesta alimenticia en cada comida incluyendo las comidas de la mañana, fruta y de la noche en dosis 0.3 mg/kg. Sin embargo, el efecto disminuye y la ingesta alimenticia regresa cerca de los niveles de control o línea basal

después de alrededor de 30 días de tratamiento cuando la dosis se aumentó hasta 1 mg/kg. El Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) no tiene un efecto importante en la ingesta alimenticia de la mañana y sólo reduce modestamente la ingesta alimenticia en la comida de la noche cuando la dosis se aumentó hasta 1 y 3 mg/kg. Sin embargo, el Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) reduce la ingesta de fruta similarmente como Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E). En general, Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) muestra un efecto más fuerte al inhibir la ingesta alimenticia que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). El efecto en la ingesta alimenticia aparece para ser de corta duración y la ingesta alimenticia se recuperó después de aproximadamente 30 días de tratamiento.

25.3. Efecto de los Compuestos de Prueba en el Peso Corporal

Se vigiló el peso corporal semanalmente a lo largo del estudio. Durante el curso de los tratamientos de 9 semanas, el peso corporal de animales tratados con vehículo permanece constante mientras que el peso corporal de los animales tratados con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) progresivamente disminuye. El Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) resulta en una disminución de peso corporal más pronunciada que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) como se muestra en la Figura 68.

25.4. Efecto de los Compuestos de Prueba en el Índice de Masa Corporal (BMI), Grosor del pliegue de la Piel (SFT) y Circunferencia Abdominal (AC)

Se vigilaron el BMI, SFT y AC semanalmente a lo largo

del estudio, tanto antes como después de la administración de los compuestos de prueba cuando se tomó peso corporal. El BMI se define como el peso corporal del individuo dividido por el cuadrado de su altura. El SFT es el grosor de una capa doble de piel y la grasa debajo con un calibre especial que ejerce una tensión constante en el sitio. El BMI, SFT y AC son mediciones relativamente exactas, sencillas, y baratas de la composición corporal particularmente indicativas de grasa subcutánea. Los animales tratados con vehículo muestran BMI, SFT y AC relativamente estables a lo largo del estudio. Los animales tratados con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) muestran niveles disminuidos de BMI, SFT y AC durante el curso del estudio de 9 semanas, sugiriendo que ambos compuestos resultan en reducción de masa de grasa. El Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) fue más efectivo y resultó en reducciones más pronunciadas en BMI, SFT y AC que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). Los resultados se muestran en las Figuras 69, 70 y 71, respectivamente.

25.5 Efecto de los Compuestos de Prueba en Niveles de Glucosa en la Sangre en Ayunas

La sangre se recolectó de animales que ayunaron durante toda la noche. El retiro de sangre se condujo semanalmente en 5 días después de cada inyección. Tanto Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) como Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) reducen los niveles de glucosa en la sangre en ayunas. El Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) reduce los niveles de glucosa en la sangre en ayunas en la dosis de 0.3 mg/kg y la reducción de glucosa

máxima se alcanzó cuando la dosis se aumentó a 1 mg/kg. Sin embargo, el Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) sólo resulta en una reducción modesta de los niveles de glucosa en la sangre en la dosis más alta probada (3 mg/kg). Por lo tanto, Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) fue más eficaz y produjo reducción de glucosa en la sangre más pronunciada que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). No se observó hipoglicemia en ninguno de los monos tratados con Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) o Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). La Figura 72 muestra los niveles de glucosa en la sangre en ayunas durante el curso del estudio.

25.6 Efecto de los Compuestos de Prueba en Prueba de Tolerancia a la Glucosa Oral (OGTT)

Se condujeron las OGTTs antes y después del inicio de los tratamientos. Los OGTTs después de la dosis se realizaron cada tres semanas para probar el efecto del compuesto en cada nivel de dosis. El Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) mejora la tolerancia a la glucosa en todas las dosis probadas de 0.3 hasta 3 mg/kg. Los niveles de glucosa se redujeron y la excursión de glucosa seguida por un bolo de enfrentamiento a la glucosa incrementan en respuesta al tratamiento Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E). No hubo respuesta de dosis observada sugiriendo que Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) alcanza su efecto máximo en la dosis de 0.3 mg/kg. El Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) sólo resulta en una mejora de tolerancia a la glucosa en dosis de 1 mg/kg y no fue claro como el efecto disminuye cuando la dosis se aumentó a 3 mg/kg. La Figura 73 muestra los perfiles de curva antes y después de OGTT y el área bajo la curva OGTT.

25.7 Efecto de los Compuestos de Prueba en los Niveles de Triglicérido

Se recolectó sangre de animales que ayunaron durante toda la noche. El retiro de sangre se condujo semanalmente en 5 días después de cada inyección. Los niveles de triglicérido se redujeron significativamente en animales tratados con Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) o Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). Sin embargo, Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) fue más efectivo que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). El Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) resulta en una reducción máxima de los niveles de triglicérido en el plasma en 0.3 mg/kg mientras que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) sólo resulta en una reducción intermedia de los niveles de triglicérido con la dosis probada más alta (3 mg/kg). La Figura 74 muestra los niveles de triglicéridos en el plasma en el ayuno durante el curso del estudio.

25.8 Efecto de los Compuestos de Prueba en Niveles de Colesterol Total y Colesterol HDL

Se recolectó sangre de animales ayunados durante la noche. El retiro de sangre se condujo semanalmente en 5 días después de cada inyección. Los niveles de colesterol HDL y colesterol total en el plasma tienden a incrementar después del tratamiento de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) o Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). Las Figuras 75 y 76 muestran los niveles de colesterol total y colesterol HDL sobre el curso del estudio.

25.9 Conclusiones

En un estudio a escala de la dosis conducido en monos *cynomolgus* IGT macho, los animales tratados con mutantes FGF21 conjugados con Fc, particularmente Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G), muestran parámetros metabólicos mejorados. El peso corporal se redujó y la composición corporal se mejoró. La reducción de corta duración de ingesta alimenticia se observó y la ingesta alimenticia se recuperó a niveles de control o línea basal del estudio medio. Los niveles de triglicérido y glucosa en la sangre en ayuno también se redujeron por ambos componentes, Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) o Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G). La OGTT se mejoró y los niveles de colesterol HDL se elevaron ligeramente. Comparado con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G), Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) aparece para ser superior a Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) e todos los parámetros medidos en cualquier dosis probada. El Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) alcanza sus efectos máximos para la mayoría de los parámetros medidos cuando se administran en 0.3 mg/kg. Por lo tanto la dosis efectiva terapéutica de Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) en especies superiores puede ser menor que 0.3 mg/kg.

EJEMPLO 26

Estudio de Estabilidad en Monos *Cynomolgus*

Este estudio se diseñó para determinar si Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 57) fue más resistente a

000205

la proteasa que Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43). El procesamiento de terminal carboxi se observó seguido por inyección Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) en ratones o monos como se muestra en el Ejemplo 21. La degradación resulta en una pérdida sucesiva de 1 hasta 3 residuos de aminoácidos de la terminal C. Los esfuerzos por limitar la terminal C o introducir las mutaciones adicionales en la terminal C de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) proporcionan una molécula superior Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E). Este estudio se diseñó para evaluar si Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) ha mejorado la estabilidad *in vivo* comparado con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G).

Se generaron los constructos Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G). Estos constructos comprenden una secuencia IgG1 Fc (SEQ ID NO: 11) fusionada a la terminal C a una secuencia ligadora (Gly)5-Ser-(Gly)3-Ser-(Gly)4-Ser (SEQ ID NO: 28) que luego se fusionó a la terminal N de una secuencia FGF21 madura (SEQ ID NO: 4), en la cual ya sea dos mutaciones, L98R, P171G, o tres mutaciones, L98R, P171G, y A180E, se introdujeron. Estos constructos luego se expresaron y purificaron como se describe en la presente, y se aislaron como una forma dimérica de la proteína, cada monómero del cual se ligó por medio de enlaces de disulfuro intermoleculares entre la región Fc de cada monómero.

La estabilidad *in vivo* de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) se comparó en monos *cynomolgus* macho. El Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) se inyectaron intravenosamente en monos cynomolgus en 23.5 mg/kg. Las muestras de sangre se

recolectaron en varios puntos de tiempo seguido por una inyección iv sencilla. Se usó espectrometría de masa de inmunoafinidad-MALDI-TOF para vigilar los metabolitos en cada punto de tiempo después de la inyección. Los resultados se muestran en la Figura 77.

Comparado con Fc-(L15)-FGF21(L98R, P171G), Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) muestra degradación de terminal C significativamente reducida con pocos picos de masa detectables adyacentes al pico precursor de la molécula intacta, sugiriendo que la mutación A180E disminuye la degradación de peptidasa de terminal C. Las truncaciones más largas con pérdidas de masa estimadas en [1-376], [1-394] y [1-401] también se observaron y los sitios corresponden a 133-134, 153-154 y 158-159 en la secuencia de polipéptido FGF21. El recorte de endopeptidasa interno contribuye al metabolismo general de tanto Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) como Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E), y la mutación A180E no aparace para impactar significativamente la tasa de degradación de endopeptidasa interna.

Con objeto de incrementar la resolución y proporcionar detalles de la mezcla de degradación, la espectrometría de masa LC-EM MRM (monitoreo de reacción múltiple) también se realizó para vigilar varias formas de los fragmentos de degradación de terminal C. Las muestras de mono se purificaron por afinidad y luego se sometieron a digestión Asp-N. Los péptidos digeridos de terminal C luego se vigilaron por MRM. Los resultados para varias formas de los fragmentos de degradación de terminal C se expresan como cantidad relativa para especies de péptido de longitud completa (%) mostradas en la Figura 78. Consistente con

000207

los espectros MALDI, el análisis semi-cuantitativo MRM de los fragmentos de terminal C también muestran abundancia relativa reducida de los fragmentos de péptido que pierden 1-3 aminoácidos de la terminal C y la abundancia relativa incrementada de la molécula intacta en monos administrados con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) comparados con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G).

En resumen, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) muestra la degradación de terminal C reducida y estabilidad *in vivo* potenciada comparada con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) en monos *cynomolgus*.

EJEMPLO 27

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

Este estudio se diseñó para evaluar los farmacocinéticos de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) (SEQ ID NO: 57) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) (SEQ ID NO: 43) siguiendo una dosis intravenosa sencilla para ratones C57BL/6 macho.

El Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) se dieron en 20 mg/kg a través de la inyección intravenosa. Las muestras de sangre se recolectaron en 0.083 (5 minutos), 1, 4, 8, 16, 24, 48, 72, 96, 168, y 240 horas después de la dosificación. Con objeto de determinar las concentraciones de plasma de la molécula de longitud completa intacta, un ensayo ELISA con la inmunoreactividad dirigida al FGF21 de terminal C y terminal N se desarrolló. El ensayo encuentra la molécula intacta de longitud completa con combinaciones insignificantes de otros productos de degradación. Las concentraciones de plasma de

000208

Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) y Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) intacto durante un periodo de 240 horas después de la inyección intravenosa en ratones se muestran en la Figura 79.

Las concentraciones de plasma de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) fueron significativamente superiores que aquellas de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) administradas en el mismo nivel de dosis de 24 hasta 168 horas después de la inyección. Una cantidad importante de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) se midió en 168 horas después de la inyección en ratones. Como un resultado, Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) muestra cobertura AUC incrementada y vida media circulante en el plasma por 2 veces comparada con Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) en ratones. La vida media de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E) fue 16.6 horas y aquella de Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G) fue 9.4 horas. Ambos compuestos fueron debajo del nivel detectable en 240 horas después de la dosis.

EJEMPLO 28

Generación de Mutantes de Glicosilación Ligados a N para Mejorar la Solubilidad o Disminuir el Recorte de la Terminal C para Incrementar la Vida Media

Los mutantes FGF21 se diseñaron y generaron para crear sitios de glicosilación ligados a N potenciales para expresión mamífera con disrupción mínima para la secuencia de aminoácidos nativa. Los mutantes construidos incluyen FGF21 (Y179N, S181T) (SEQ ID NO: 161), FGF21 Y179N (SEQ ID NO: 163) y FGF21 P124S (SEQ ID NO: 165).

La expresión de los mutantes se realizó

transitoriamente en células 293-6E y el medio acondicionado se probó para actividad en un ensayo *in vitro* de ELK-luciferasa. Los ensayos de ELK-luciferasa se realizaron como se describe en el Ejemplo 4, con la excepción de que varias diluciones de medio acondicionados se usaron en vez de concentraciones diferentes de proteínas purificadas.

El análisis del medio acondicionado revela que la glicosilación incrementada comparada con el tipo natural no se alcanzó en el sistema de expresión transitoria. La Figura 80 muestra los resultados de un ensayo de actividad de ELK-luciferasa. Los resultados mostrados en la Figura 80 demuestran que el mutante P124S FGF21 no impacta adversamente la actividad FGF21 pero los mutantes FGF21 Y179N y FGF21 (Y179N, S181T), en la ausencia de glicosilación, resultando en actividad reducida como se procesa por ensayo en el ensayo de ELK-luciferasa.

Mientras que la presente invención se ha descrito en términos de varias modalidades, se entiende que ocurrirán variaciones y modificaciones a aquellas personas expertas en el campo. Por lo tanto, se propone que las reivindicaciones adjuntas cubran todas estas variaciones equivalentes que entran en el alcance de la invención como es reclamada. Además, los títulos de las secciones usados en este documento son para propósitos de organización únicamente y no se deben considerar como limitantes del contenido descrito.

Todas las referencias citadas en esta solicitud se incorporan expresamente a manera de referencia en este documento para cualquier propósito.

NOVEDAD DE LA INVENCIÓN

Habiendo descrito la presente invención, se considera como novedad, y por lo tanto se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes:

5

000211

REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido aislado, caracterizado porque comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 y que comprende además:

(a) al menos una secuencia de aminoácidos en la posición 180; y

(b) al menos una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste de:

(i) una sustitución en la posición 171; y

(ii) una sustitución en la posición 98; y

(c) combinaciones de los mismos.

2. El polipéptido aislado de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el polipéptido comprende una sustitución en la posición 98 y una sustitución en la posición 180 y en donde:

(a) la sustitución en la posición 98 se selecciona del grupo que consiste de arginina, cisteína, ácido glutámico, glutamina, lisina, y treonina; y

(b) la sustitución en la posición 180 se selecciona del grupo que consiste de glicina, prolina, serina o ácido glutámico; y

(c) combinaciones de los mismos.

3. El polipéptido aislado de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque el residuo en la posición 98 es arginina y el residuo en la posición 180 es ácido glutámico.

000212

4. El polipéptido de fusión, caracterizado porque comprende el polipéptido aislado de conformidad con la reivindicación 3, fusionado a una secuencia de aminoácidos heteróloga.

5. El polipéptido de fusión de conformidad con la reivindicación 4, caracterizado porque la secuencia de aminoácidos heteróloga es un dominio Fc o fragmento de la misma.

6. El polipéptido de fusión de conformidad con la reivindicación 5, caracterizado porque el dominio Fc comprende la secuencia de aminoacidos de SEQ ID NO: 11.

7. El polipéptido de fusión de conformidad con la reivindicación 6, caracterizado porque el polipéptido se fusiona al dominio Fc por medio de una ligadura.

8. El polipéptido de fusión de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado porque la ligadura comprende GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 31).

9. El polipéptido de fusión de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado porque el polipéptido comprises SEQ ID NO: 47.

10. El multímero, caracterizado porque comprende dos o más del polipéptido de fusión de conformidad con la reivindicación 9.

11. La composición farmacéutica, caracterizada porque comprende el polipéptido aislado de conformidad con la reivindicación 2 y un agente de formulación farmacéuticamente aceptable.

12. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 11, caracterizada porque el agente de formulación

farmacéuticamente aceptable es un hidrogel.

13. El método para tratar un trastorno metabólico, caracterizado porque comprende administrar a un paciente humano que necesita del mismo la composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 12.

14. El método de conformidad con la reivindicación 13, caracterizado porque el trastorno metabólico es diabetes.

15. El método de conformidad con la reivindicación 13, caracterizado porque el trastorno metabólico es obesidad.

16. El ácido nucleico aislado, caracterizado porque codifica el polipéptido de conformidad con la reivindicación 2.

17. El ácido nucleico aislado de conformidad con la reivindicación 16, caracterizado porque el ácido nucleico comprende SEQ ID NO: 46.

18. Un vector caracterizado porque comprende la molécula de ácido nucleico de conformidad con la reivindicación 17.

19. Una célula hospedera, caracterizada porque comprende la molécula de ácido nucleico de conformidad con la reivindicación 18.

20. El polipéptido aislado de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque el polipéptido comprende:

(a) una truncación de terminal amino de no más de 8 residuos de aminoácidos, en donde el polipéptido es capaz de disminuir la glucosa en la sangre en un mamífero;

(b) una truncación de terminal carboxilo de no más de 12 residuos de aminoácidos, en donde el polipéptido es capaz de disminuir la glucosa en la sangre en un mamífero; o

(c) una truncación de terminal amino de no más de 8 residuos de aminoácidos y una truncación de terminal carboxilo de no más de 12 residuos de aminoácidos, en donde el polipéptido es capaz de disminuir la glucosa en la sangre en un mamífero.

21. El polipéptido aislado de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque el polipéptido se liga covalentemente a uno o más polímeros.

22. El polipéptido aislado de conformidad con la reivindicación 21, caracterizado porque el polímero es PEG.

23. El polipéptido aislado de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el polipéptido comprende una sustitución en la posición 171 y una sustitución en la posición 180 y en donde:

(a) la sustitución en la posición 180 se selecciona del grupo que consiste de glicina, prolina, serina y ácido glutámico;

(b) la sustitución en la posición 171 se selecciona del grupo que consiste de una alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, lisina, serina, treonina, triptofano, y tirosina; y

(c) combinaciones de los mismos.

24. El polipéptido aislado de conformidad con la reivindicación 23, caracterizado porque el residuo en la posición 171 es glicina y el residuo en la posición 180 es ácido glutámico.

25. Un polipéptido de fusión, caracterizado porque comprende el polipéptido aislado de conformidad con la reivindicación 24, fusionado a una secuencia de aminoácidos

heteróloga.

26. El polipéptido de fusión de conformidad con la reivindicación 25, caracterizado porque la secuencia de aminoácidos heteróloga es un dominio Fc o fragmento de la misma.

27. El polipéptido de fusión de conformidad con la reivindicación 26, caracterizado porque el dominio Fc comprende la secuencia de aminoacidos de SEQ ID NO: 11.

28. El polipéptido de fusión de conformidad con la reivindicación 27, caracterizado porque el polipéptido se fusiona al dominio Fc por medio de una ligadura.

29. El polipéptido de fusión de conformidad con la reivindicación 28, caracterizado porque la ligadura comprende GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 31).

30. El polipéptido de fusión de conformidad con la reivindicación 29, caracterizado porque el polipéptido comprende SEQ ID NO: 47.

31. El multímero, caracterizado porque comprende dos o más polipéptidos de fusión de conformidad con la reivindicación 30.

32. La composición farmacéutica, caracterizada porque comprende el polipéptido aislado de conformidad con la reivindicación 30 y un agente de formulación farmacéuticamente aceptable.

33. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 32, caracterizada porque el agente de formulación farmacéuticamente aceptable es un hidrogel.

34. El método para tratar un trastorno metabólico, caracterizado porque comprende administrar a un paciente humano

que necesita del mismo la composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 32.

35. El método de conformidad con la reivindicación 34, caracterizado porque el trastorno metabólico es diabetes.

36. El método de conformidad con la reivindicación 34, caracterizado porque el trastorno metabólico es obesidad.

37. El ácido nucleico aislado, caracterizado porque codifica el polipéptido de conformidad con la reivindicación 23.

38. El ácido nucleico aislado de conformidad con la reivindicación 37, caracterizado porque el ácido nucleico comprende SEQ ID NO: 46.

39. El vector, caracterizado porque comprende la molécula de ácido nucleico de conformidad con la reivindicación 38.

40. Una célula hospedera, caracterizada porque comprende la molécula de ácido nucleico de conformidad con la reivindicación 39.

41. El polipéptido aislado de conformidad con la reivindicación 23, caracterizado porque el polipéptido comprende:

(a) una truncación de terminal amino de no más de 8 residuos de aminoácidos, en donde el polipéptido es capaz de disminuir la glucosa en la sangre en un mamífero;

(b) una truncación de terminal carboxilo de no más de 12 residuos de aminoácidos, en donde el polipéptido es capaz de disminuir la glucosa en la sangre en un mamífero; o

(c) una truncación de terminal amino de no más de 8 residuos de aminoácidos y una truncación de terminal carboxilo de

no más de 12 residuos de aminoácidos, en donde el polipéptido es capaz de disminuir la glucosa en la sangre en un mamífero.

42. El polipéptido aislado de conformidad con la reivindicación 23, caracterizado porque el polipéptido se liga covalentemente a uno o más polímeros.

43. El polipéptido aislado de conformidad con la reivindicación 42, caracterizado porque el polímero es PEG.

44. El polipéptido aislado de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el polipéptido comprende una sustitución en la posición 98, una sustitución en la posición 171 y una sustitución en la posición 180 de SEQ ID NO: 4 y en donde:

(a) la sustitución en la posición 171 se selecciona del grupo que consiste de alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, lisina, serina, treonina, triptofano, o tirosina;

(b) la sustitución en la posición 98 se selecciona del grupo que consiste de arginina, cisteína, ácido glutámico, glutamina, lisina, o treonina; y

(c) la sustitución en la posición 180 se selecciona del grupo que consiste de glicina, prolina, serina o ácido glutámico;

y combinaciones de los mismos.

45. El polipéptido aislado de conformidad con la reivindicación 44, caracterizado porque el residuo en la posición 98 es arginina, el residuo en la posición 171 es glicina y el residuo en la posición 180 es ácido glutámico.

46. Un polipéptido de fusión, caracterizado porque

000218

comprende el polipéptido aislado de conformidad con la reivindicación 45 fusionado a una secuencia de aminoácidos heteróloga.

47. El polipéptido de fusión de conformidad con la reivindicación 46, caracterizado porque la secuencia de aminoácidos heteróloga es un dominio Fc o fragmento de la misma.

48. El polipéptido de fusión de conformidad con la reivindicación 47, caracterizado porque el dominio constante IgG comprende la secuencia de aminoacidos de SEQ ID NO:11.

49. El polipéptido de fusión de conformidad con la reivindicación 48, caracterizado porque el polipéptido se fusina al dominio Fc por medio de una ligadura.

50. El polipéptido de fusión de conformidad con la reivindicación 49, caracterizado porque la ligadura comprende GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:31).

51. El polipéptido de fusión de conformidad con la reivindicación 50, caracterizado porque el polipéptido comprende SEQ ID NO:47.

52. El multímero, caracterizado porque comprende dos o más polipéptidos de fusión de conformidad con la reivindicación 51.

53. Un polipéptido caracterizado porque comprende:

(a) el polipéptido de SEQ ID NO:4, en donde

(i) la leucina en la posición 98 está sustituida con una arginina;

(ii) la prolina en la posición 171 está sustituida con glicina; y

(iii) la alanina en la posición 180 está

sustituida con ácido glutámico;

(b) una secuencia ligadora que comprende SEQ ID NO:31; y

(c) un dominio Fc que comprende SEQ ID NO:11.

54. Un polipéptido, caracterizado porque comprende la secuencia de SEQ ID NO:47.

55. Un polipéptido, caracterizado porque se codifica por la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO:46.

56. La composición farmacéutica, caracterizada porque comprende el polipéptido aislado de conformidad con las reivindicaciones 44 o 53 y un agente de formulación farmacéuticamente aceptable.

57. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 56, caracterizada porque el agente de formulación farmacéuticamente aceptable es un hidrogel.

58. El método para tratar un trastorno metabólico, caracterizado porque se administra a un paciente humano que necesita del mismo la composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 57.

59. El método de conformidad con la reivindicación 58, caracterizado porque el trastorno metabólico es diabetes.

60. El método de conformidad con la reivindicación 58, caracterizado porque el trastorno metabólico es obesidad.

61. El ácido nucleico aislado, caracterizado porque codifica el polipéptido de conformidad con las reivindicaciones 44 o 53.

62. El ácido nucleico aislado de conformidad con la reivindicación 61, caracterizado porque el ácido nucleico comprende SEQ ID NO:46.

63. El vector, caracterizado porque coprende la molécula de ácido nucleico de conformidad con la reivindicación 62.

64. La célula hospedera, caracterizada porque comprende la molécula de ácido nucleico de conformidad con la reivindicación 63.

65. El polipéptido aislado de conformidad con las reivindicaciones 44 o 53, caracterizado porque el polipéptido comprende:

(a) una truncación de terminal amino de no más de 8 residuos de aminoácidos, en donde el polipéptido es capaz de disminuir la glucosa en la sangre en un mamífero;

(b) una truncación de terminal carboxilo de no más de 12 residuos de aminoácidos, en donde el polipéptido es capaz de disminuir la glucosa en la sangre en un mamífero; o

(c) una truncación de terminal amino de no más de 8 residuos de aminoácidos y una truncación de terminal carboxilo de no más de 12 residuos de aminoácidos, en donde el polipéptido es capaz de disminuir la glucosa en la sangre en un mamífero.

66. El polipéptido aislado de conformidad con la reivindicación 44 o 53, caracterizado porque el polipéptido se liga covalentemente a uno o más polímero.

67. El polipéptido aislado de conformidad con la reivindicación 66, caracterizado porque el polímero es PEG.

Figura 1A

000222

Figura 1B

80000
60000
40000
20000
0
-12
-10
-8
-6
-4
Actividad Relativa
log [FGF21] M
FGF21
FGF21 (1-172)
FGF21 (1-171)
FGF21 (1-169)
FGF21 (1-164)

Figura 2

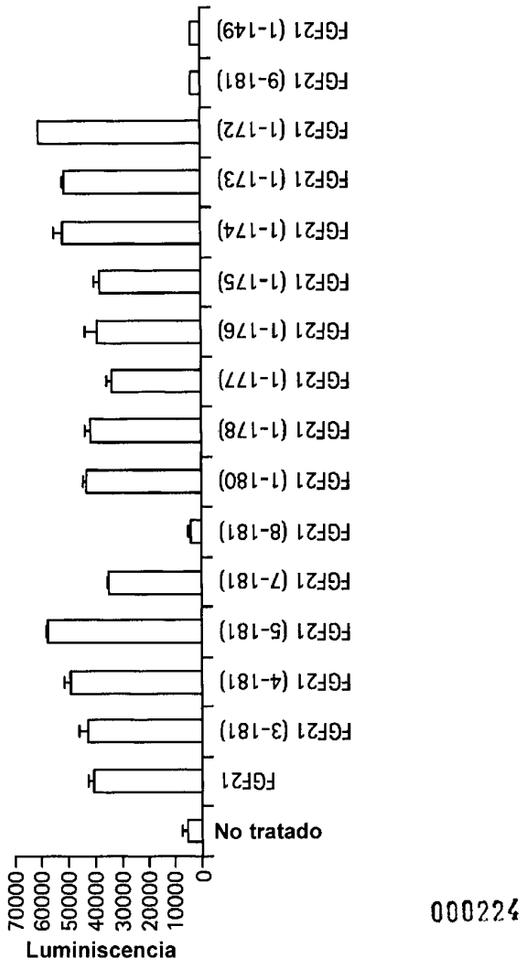

FGF21 (1-149)
FGF21 (9-181)
FGF21 (1-172)
FGF21 (1-173)
FGF21 (1-174)
FGF21 (1-175)
FGF21 (1-176)
FGF21 (1-177)
FGF21 (1-178)
FGF21 (1-180)
FGF21 (8-181)
FGF21 (7-181)
FGF21 (5-181)
FGF21 (4-181)
FGF21 (3-181)
FGF21
No tratado
0
10000
20000
30000
40000
50000
60000
70000
Luminiscencia

Figura 3

400
300
200
100
0
Glucosa en la sangre (mg/dL)
0
3
6
24
Puntos de tiempo (hr)
PBS-100uL
huFGF21 nativo 1mpk
huFGF21 (8-181) 1mpk
huFGF21 (9-181) 1mpk
^ P < 0.05
+ P < 0.01
P < 0.001

Figura 4

40
20
0
-20
-40
-60
% de cambio de glucosa en la sangre
0
6
24
72
120
168
Tiempo (hr)
PBS
Fc-(L15)-FGF21 (1-181) TN
Fc-(L15)-FGF21 (5-181)
Fc-(L15)-FGF21 (7-181)
* P< 0.05
** P< 0.01
*** P< 0.001

Figura 5

40
20
0
-20
-40
% de cambio de glucosa en la sangre
0
6
24
72
120
168
Tiempo (hr)
*
**
*
PBS
FGF21 (1-181)-(L15)-Fc TN
FGF21 (1-175)-(L15)-Fc
Fc-(L15)-FGF21 (1-171)
* P< 0.05
** P< 0.01
*** P< 0.001

Figura 6A

EP22000

Figura 6B

000223

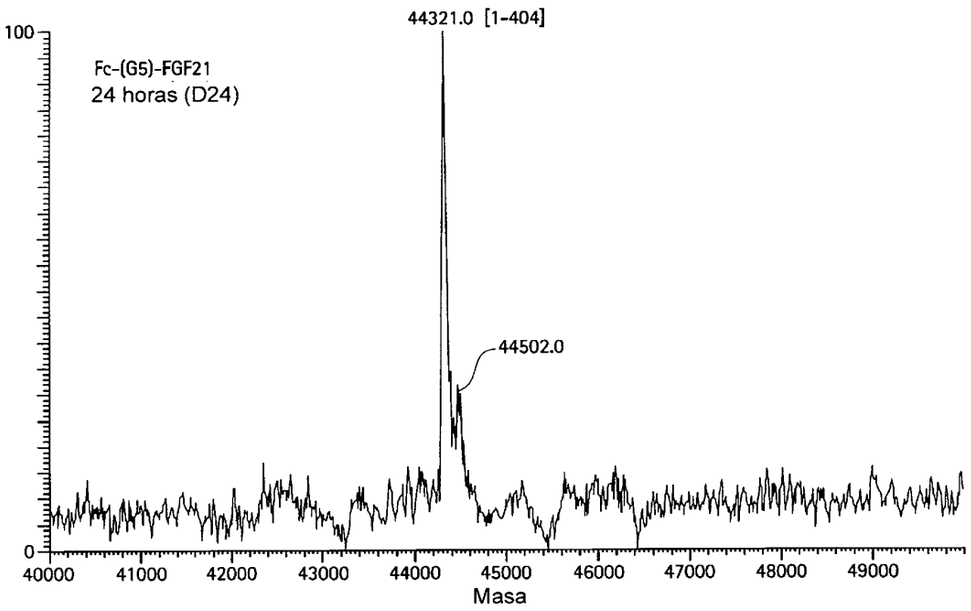

44321.0 [1-404]
100
Fc-(G5)-FGF21
24 horas (D24)
44502.0
0
40000
41000
42000
43000
44000
45000
46000
47000
48000
49000
Masa

Figura 6C

44327.0 [1-404]
100
Fc-(G5)-FGF21
48 horas (D48)
[1-384]
42356.0
42548.0
43923.0
44487.0
0
40000
41000
42000
43000
44000
45000
46000
47000
48000
49000
Masa

Figura 6D

Figura 7A

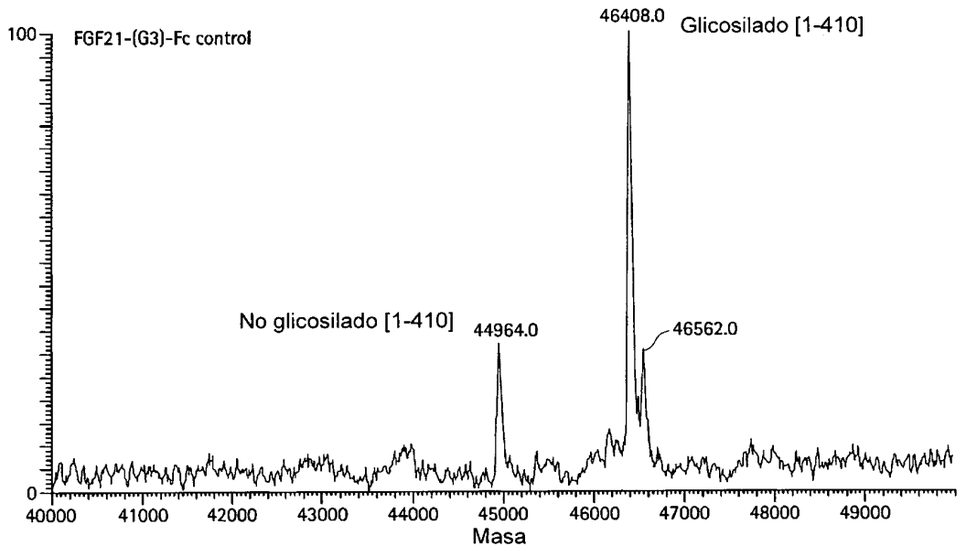

FGF21-(G3)-Fc control
100
0
46408.0
Glicosilado [1-410]
No glicosilado [1-410]
44964.0
46562.0
40000
41000
42000
43000
44000
45000
46000
47000
48000
49000
Masa

Figura 7B

000233

Figura 7C

000234

Figura 7D

000235

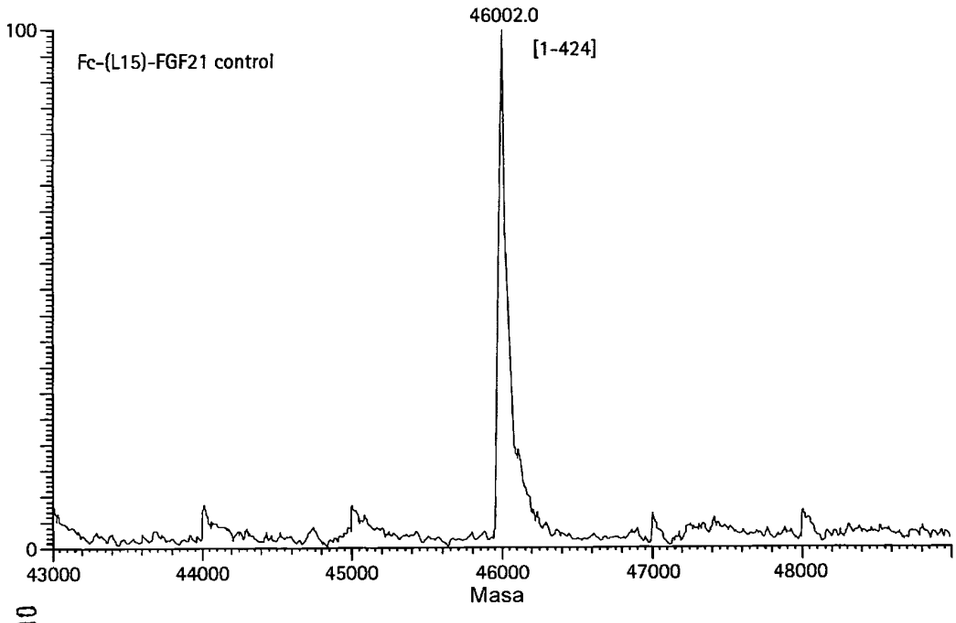


Figura 8A

000236

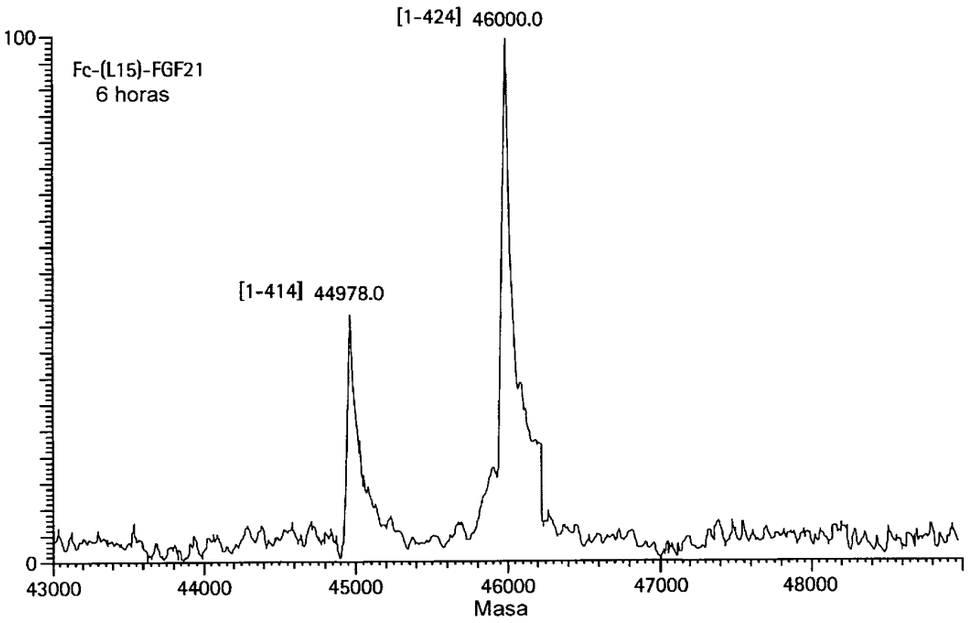

[1-424] 46000.0
100
Fc-(L15)-FGF21
6 horas
[1-414] 44978.0
0
43000
44000
45000
46000
47000
48000
Masa

Figura 8B

Figura 8C

000238

Figura 8D

000239

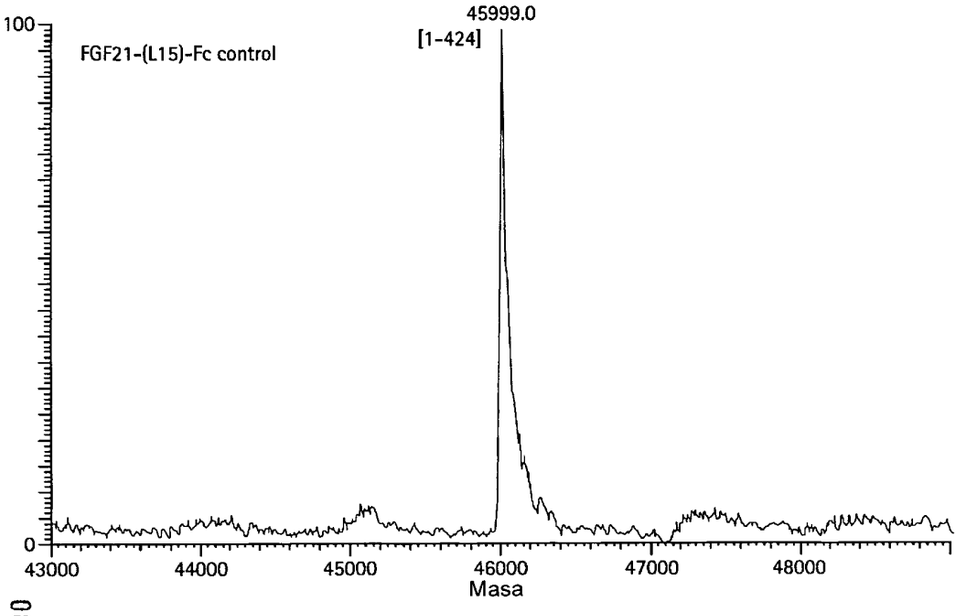


Figura 9A

000240

45870.0
[1-423]
100
FGF21-(L15)-Fc
6 horas
0
43000
44000
45000
46000
47000
48000
Masa

Figura 9B

Figura 9C

000242

Figura 9D

000243

Figura 10A

Fc-(L15)-FGF21

MDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*GGGGGSGGGSGG*
*GGS*HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQR
PDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQP
PDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS

6 hrs (35%)
24 hrs (85%) [1-414]
48 hrs (60%)

24 hrs (15%)
48 hrs (40%) [1-394]

000244

Figura 10B

24 hrs (35%)
48 hrs (20%) [6-423]

24 hrs (25%)
48 hrs (65%) [22-423]

Fc-(L15)-FGF21

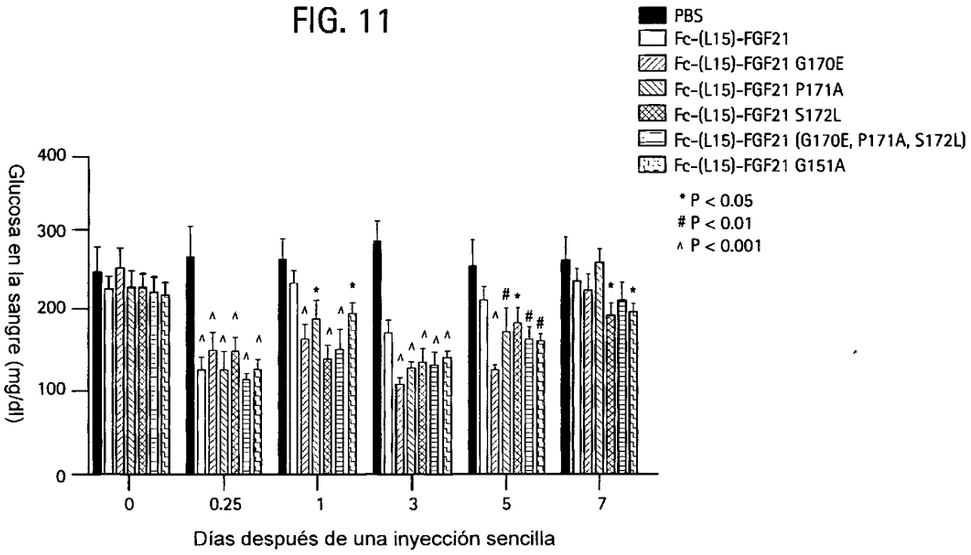
MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPD
GALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPD
VGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS*GGGGGSGGGSGGGGS*DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP
REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

6 hrs (100%) [1-423]

000245

Figura 11

FIG. 11

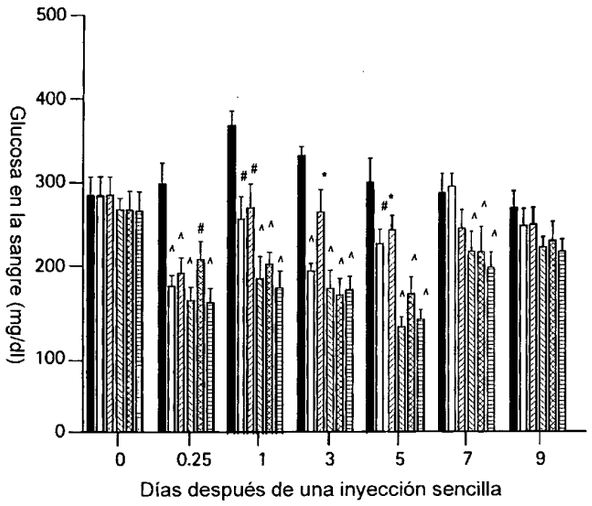


000246

Figura 12

000247

Figura 13



PBS
Fc-(L15)-FGF21
Fc-(L15)-FGF21 (P150A, G151A, I152V)
Fc-(L15)-FGF21 G170E
Fc-(L15)-FGF21 (G170E, P171A)
Fc-(L15)-FGF21 (G170E, S172L)

* P < 0.05
P < 0.01
^ P < 0.001

000248

Figura 14

PBS
Fc-(L15)-FGF21
Fc-(L15)-FGF21 (P150A, G151A, I152V)
Fc-(L15)-FGF21 G170E
Fc-(L15)-FGF21 (G170E, P171A)
Fc-(L15)-FGF21 (G170E, S172L)
% de cambio de glucosa en la sangre
50
0
-50
1
2
3
4
5
6
7
8
9
Días después de una inyección sencilla
* P< 0.05
** P< 0.01
*** P< 0.001

Figura 15

000250

Figura 16

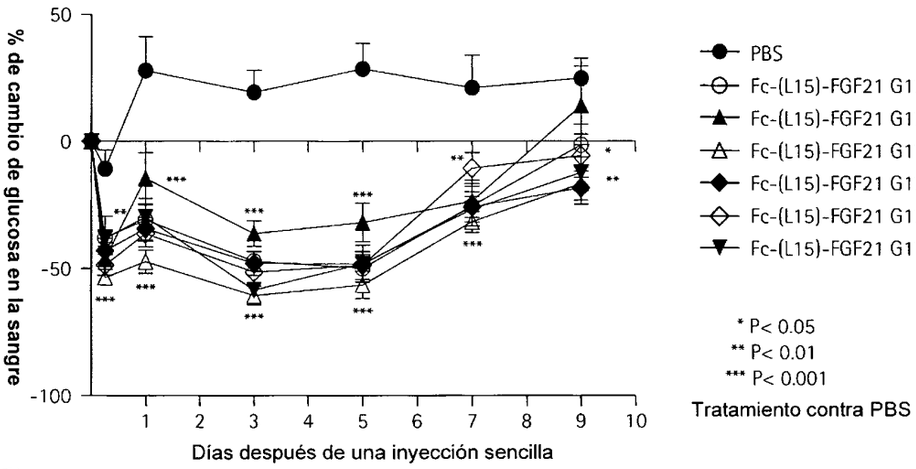

50
0
-50
-100
% de cambio de glucosa en la sangre
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
Días después de una inyección sencilla
PBS
Fc-(L15)-FGF21 G170E
Fc-(L15)-FGF21 G170A
Fc-(L15)-FGF21 G170C
Fc-(L15)-FGF21 G170D
Fc-(L15)-FGF21 G170N
Fc-(L15)-FGF21 G170S
* P< 0.05
** P< 0.01
*** P< 0.001
Tratamiento contra PBS

Figura 17

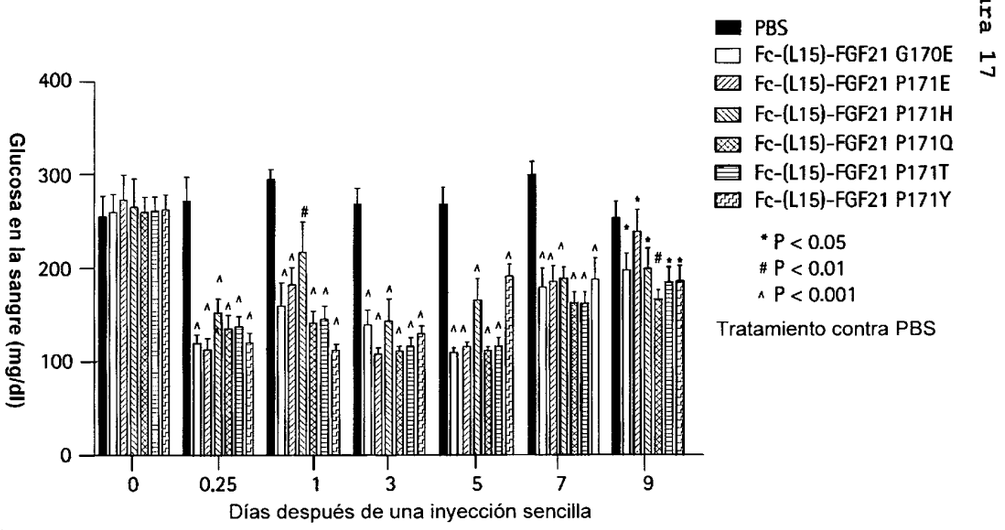

PBS
Fc-(L15)-FGF21 G170E
Fc-(L15)-FGF21 P171E
Fc-(L15)-FGF21 P171H
Fc-(L15)-FGF21 P171Q
Fc-(L15)-FGF21 P171T
Fc-(L15)-FGF21 P171Y
* P < 0.05
P < 0.01
^ P < 0.001
Tratamiento contra PBS
Glucosa en la sangre (mg/dl)
400
300
200
100
0
0
0.25
1
3
5
7
9
Días después de una inyección sencilla

Figura 18

% de cambio de glucosa en la sangre
40
20
0
-20
-40
-60
-80
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
Días después de una inyección sencilla
PBS
Fc-(L15)-FGF21 G170E
Fc-(L15)-FGF21 P171E
Fc-(L15)-FGF21 P171H
Fc-(L15)-FGF21 P171Q
Fc-(L15)-FGF21 P171T
Fc-(L15)-FGF21 P171Y
* P< 0.05
** P< 0.01
*** P< 0.001
Tratamiento contra PBS

45994.0
[1-424]
100
Fc-(L15)-FGF21 control
0
42000
43000
44000
45000
46000
47000
Masa

Figura 19A

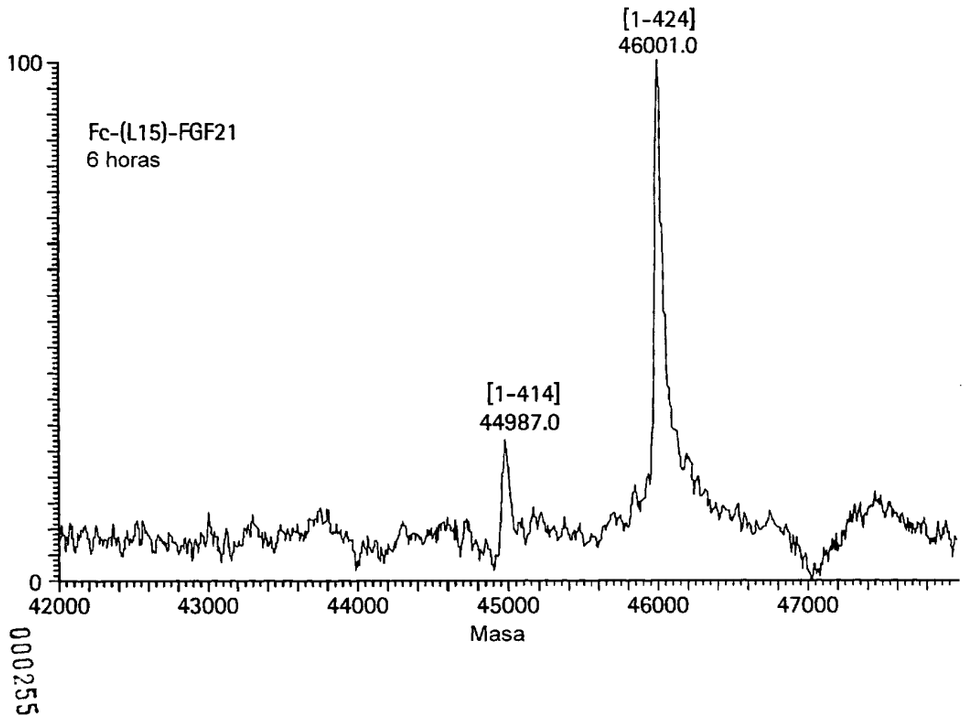


Figura 19B

000255

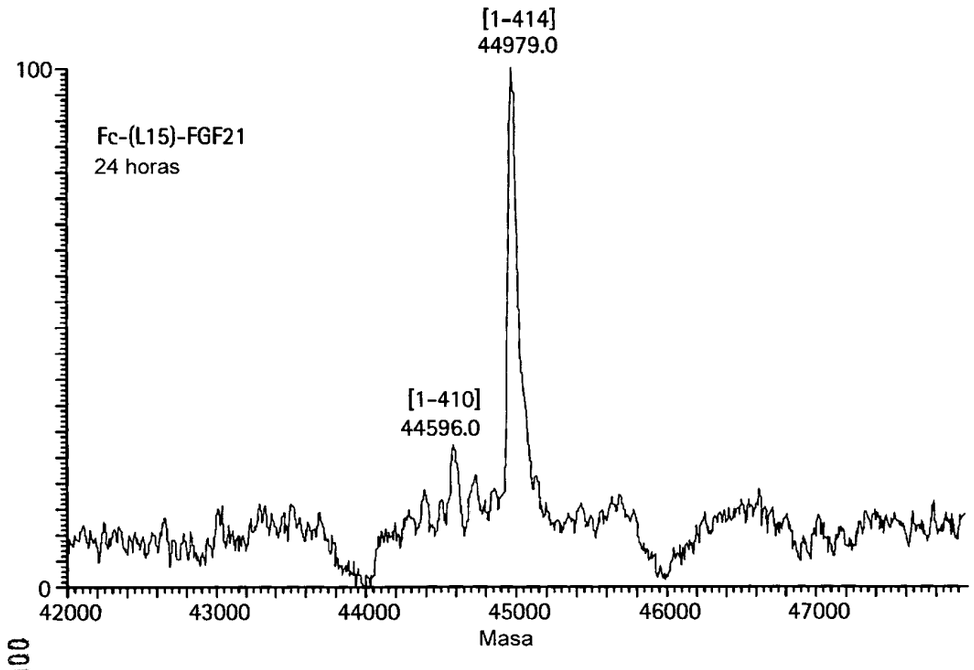


Figura 19C

000256

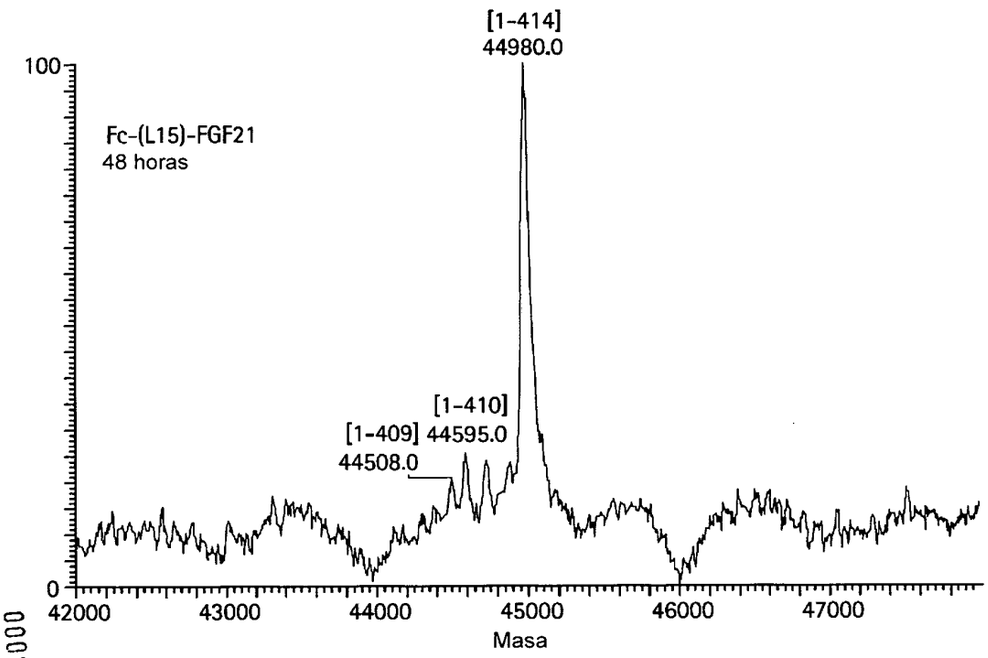


Figura 19D

000257

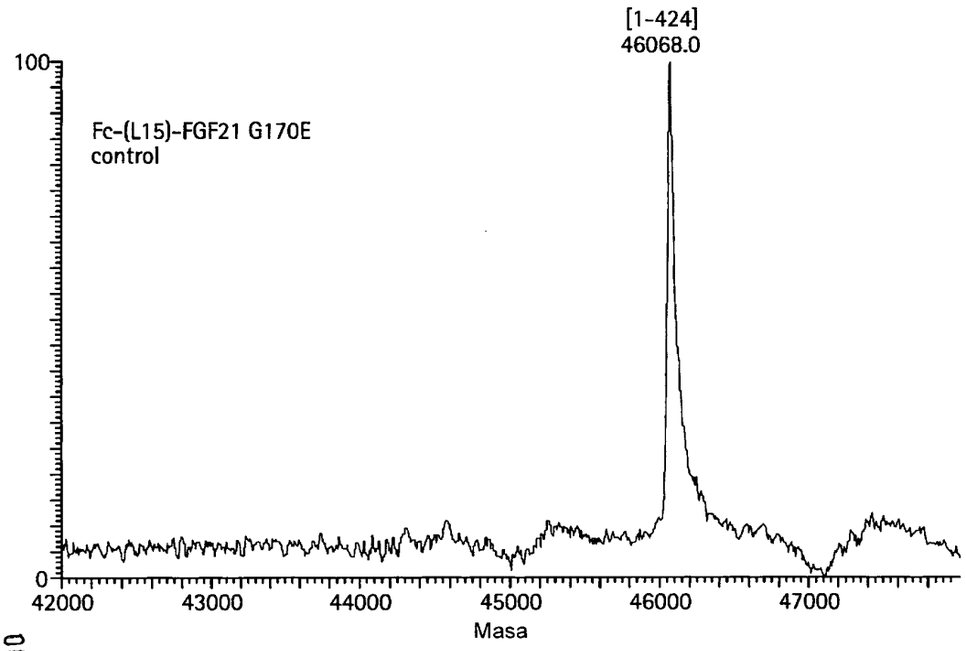


Figura 20A

000258

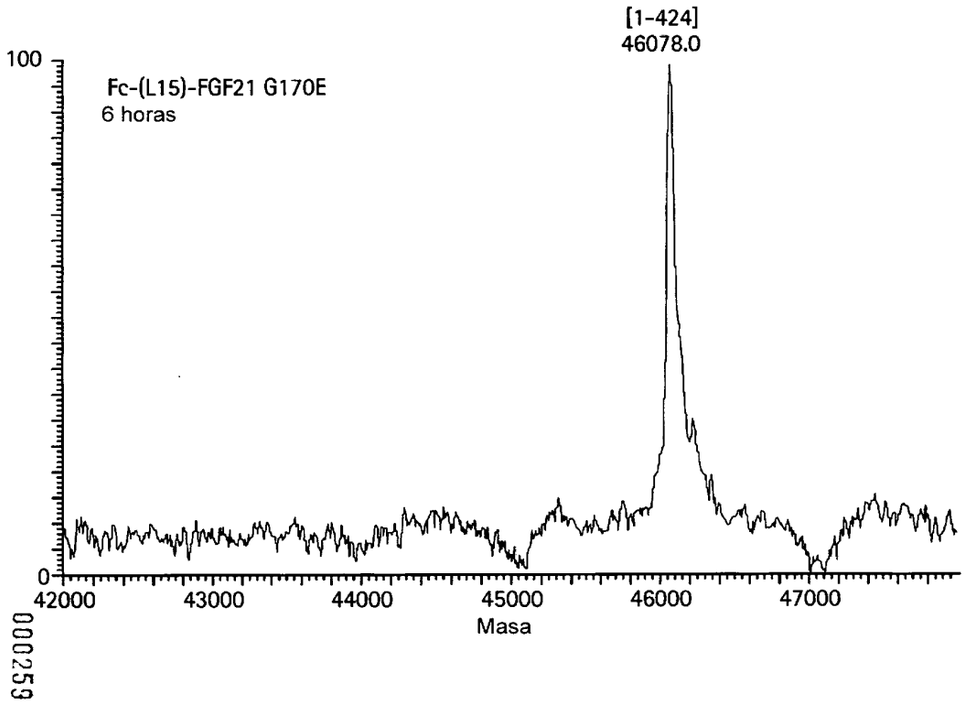


Figura 20B

000259

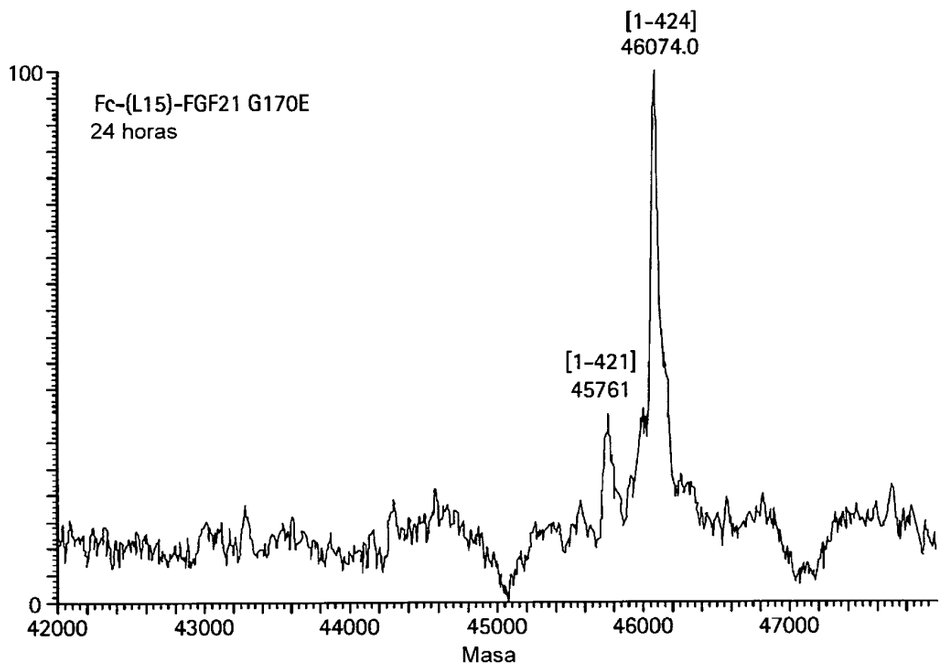


Figura 20C

092000

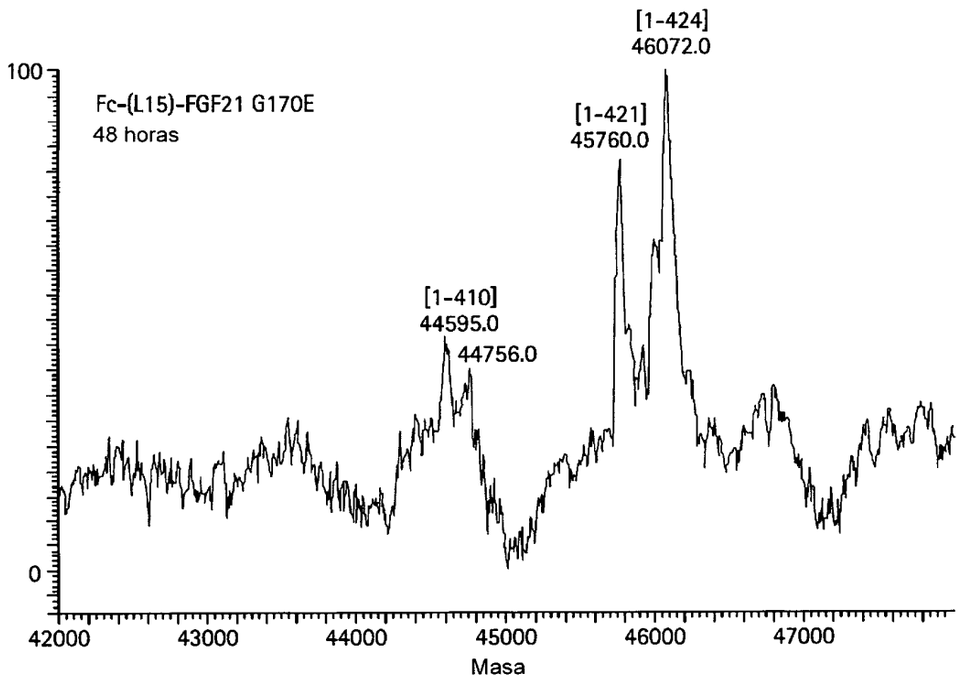


Figura 20D

000261

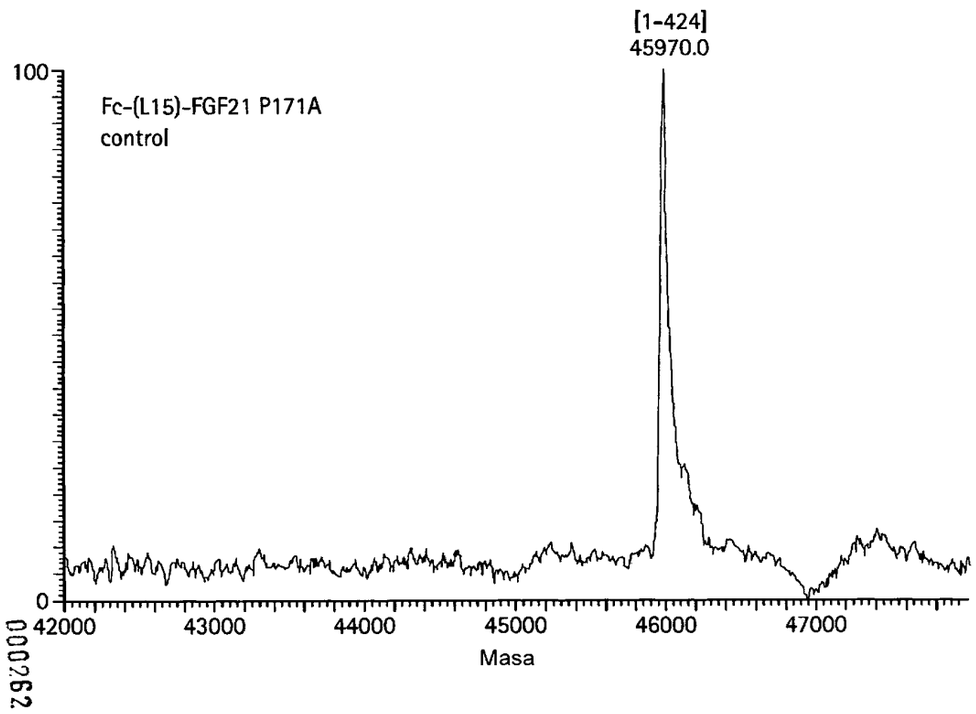


Figura 21A

000262

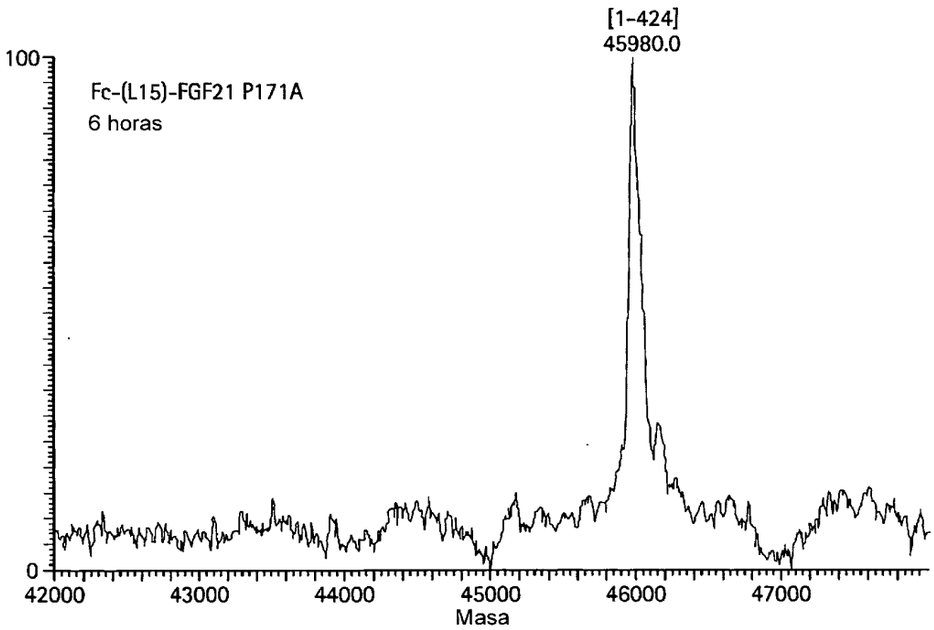


Figura 21B

000263

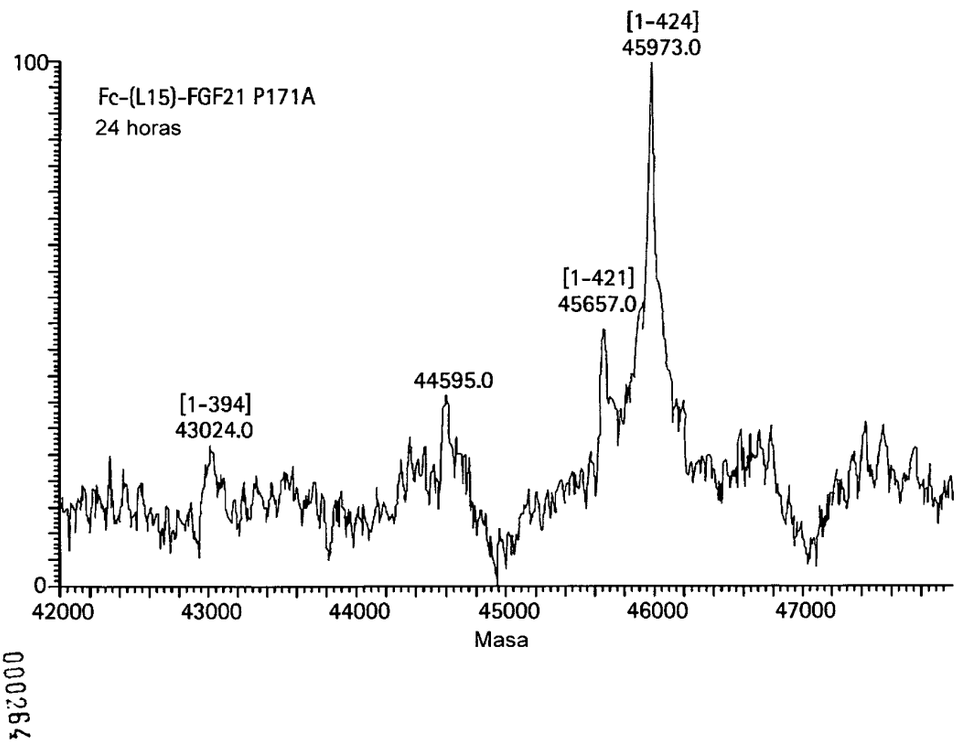


Figura 21C

000264

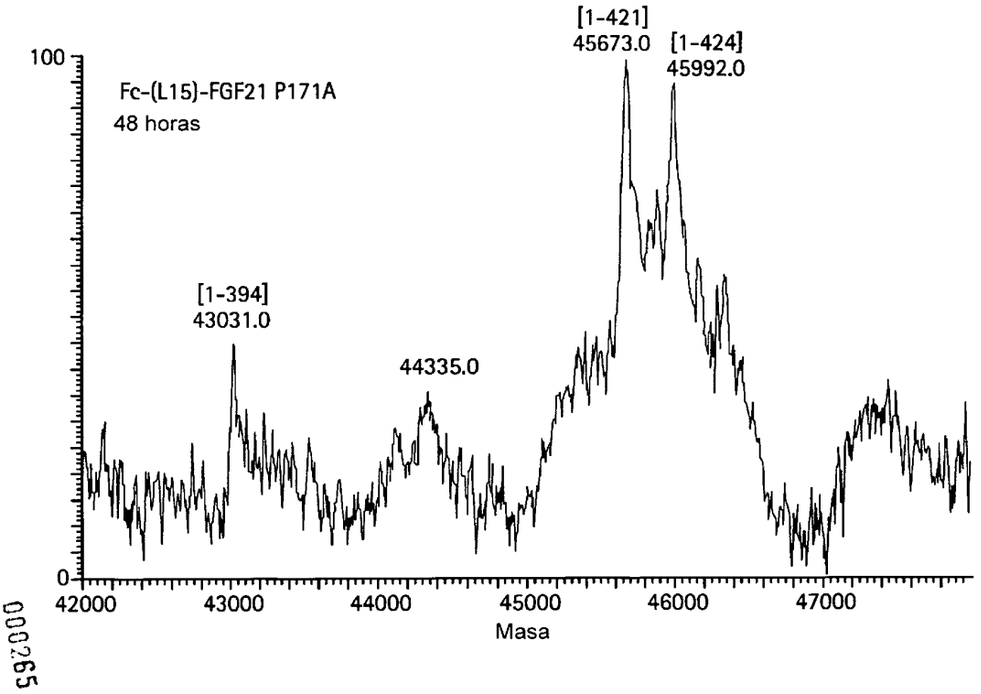


Figura 21D

000265

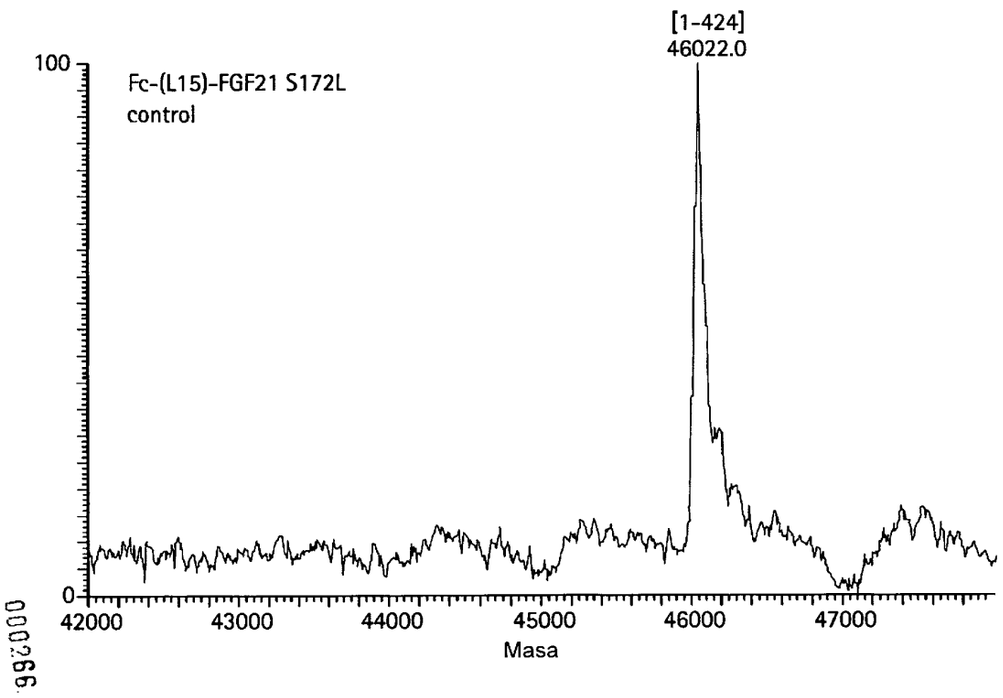


Figura 22A

000266

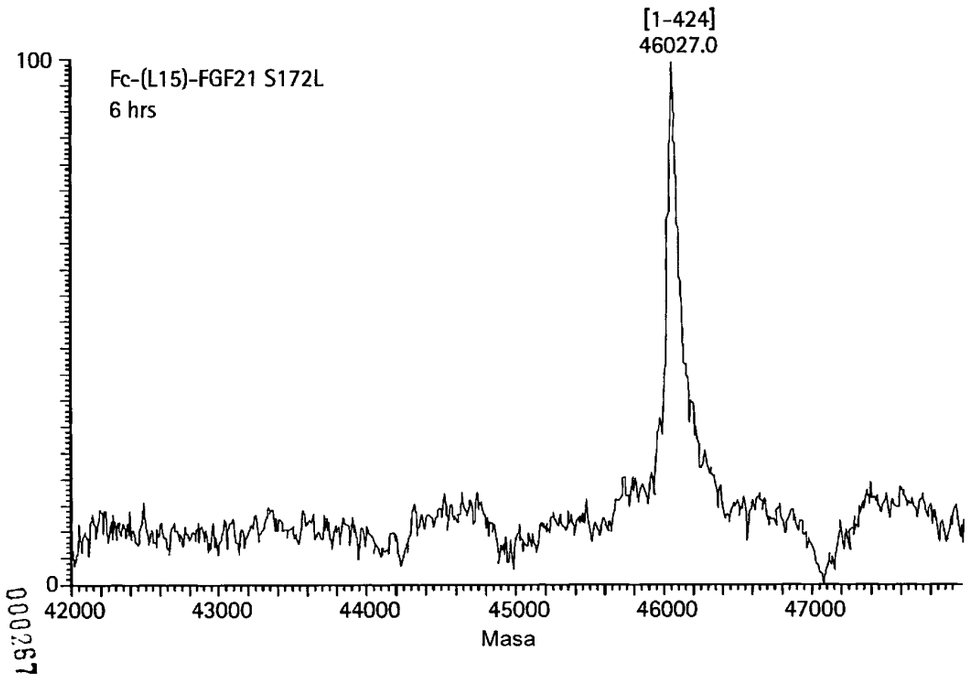

[1-424]
46027.0
100
Fc-(L15)-FGF21 S172L
6 hrs
0
42000
43000
44000
45000
46000
47000
Masa

Figura 22B

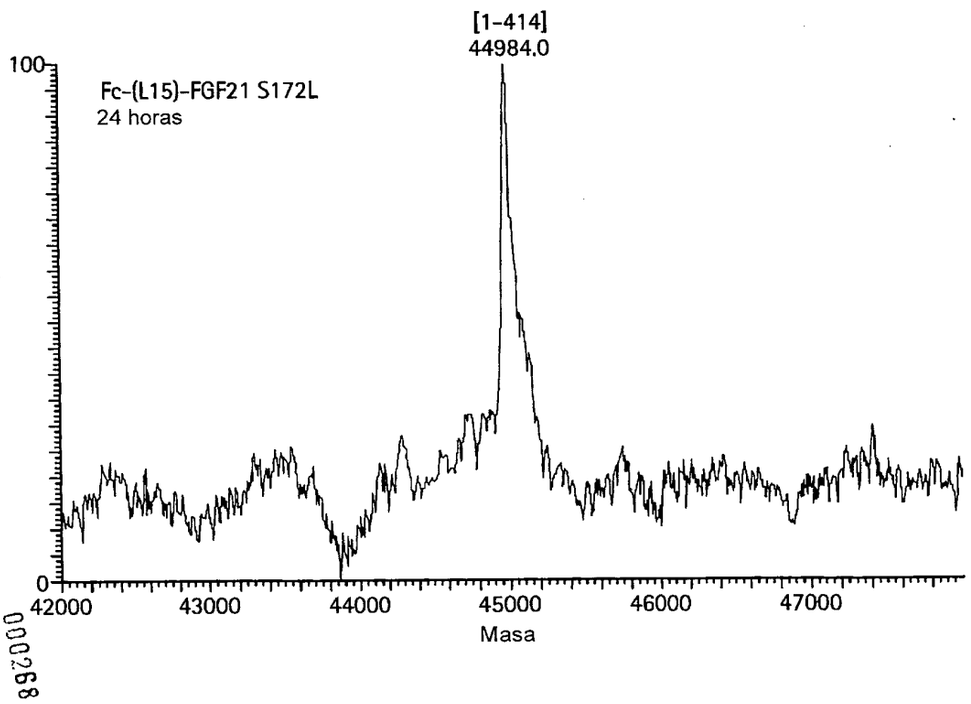
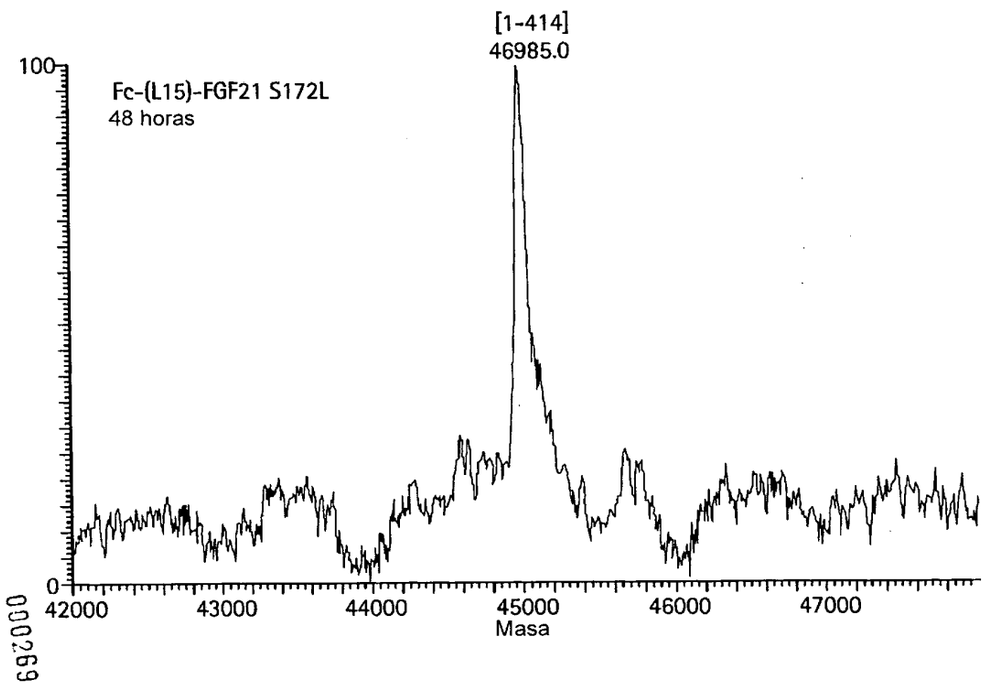


Figura 22C

892000268



000269

Figura 22D

Figura 23A

Fc-(L15)-FGF21

MDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*GGGGGSGGGSGG*
*GGS*HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQR
PDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQP
PDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS

6 hrs (20%)
24 hrs (100%) [1-414]
48 hrs (~100%)

000270

Figura 23B

Fc-(L15)-FGF21 G170E

MDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*GGGGGSGGGSGG*
*GGS*HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQR
PDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQP
PDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS

6 hrs (0%)
24 hrs (20%) [1-442]
48 hrs (~40%)

000271

Figura 23C

Fc-(L15)-FGF21 P171A

MDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*GGGGGSGGGSGG*
*GGS*HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQR
PDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQP
PDVGSSDPLSMVGASQGRSPSYAS

6 hrs (0%)
24 hrs (~30%) [1-421]
48 hrs (~50%)

000272

Figura 23D

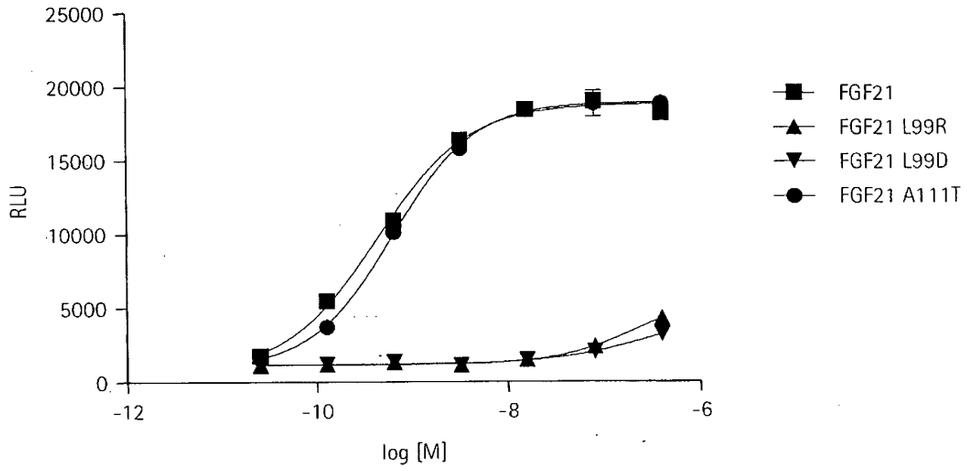
Fc-(L15)-FGF21 S172L

MDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELYKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*GGGGGSGGGSGG*
*GGS*HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQR
PDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQP
PDVGSSDPLSMVGPLQGRSPSYAS

6 hrs (0%)
24 hrs (100%) [1-414]
48 hrs (100%)

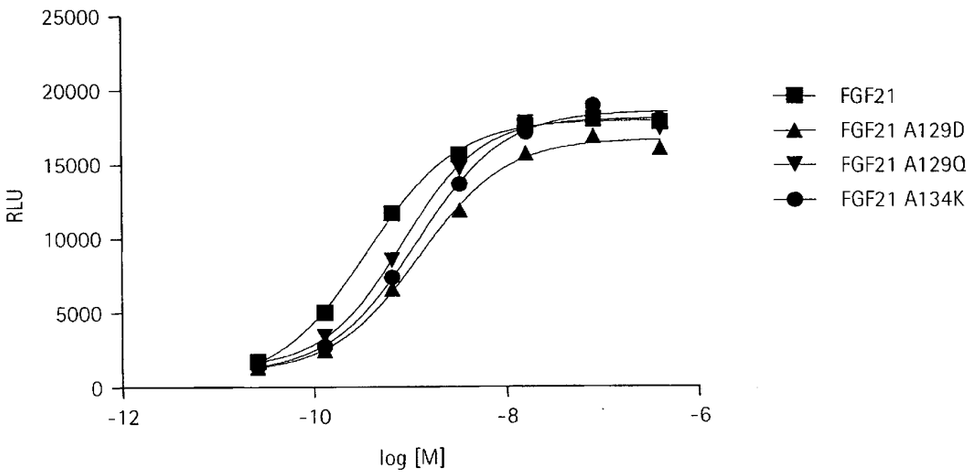
000273

Figura 24A



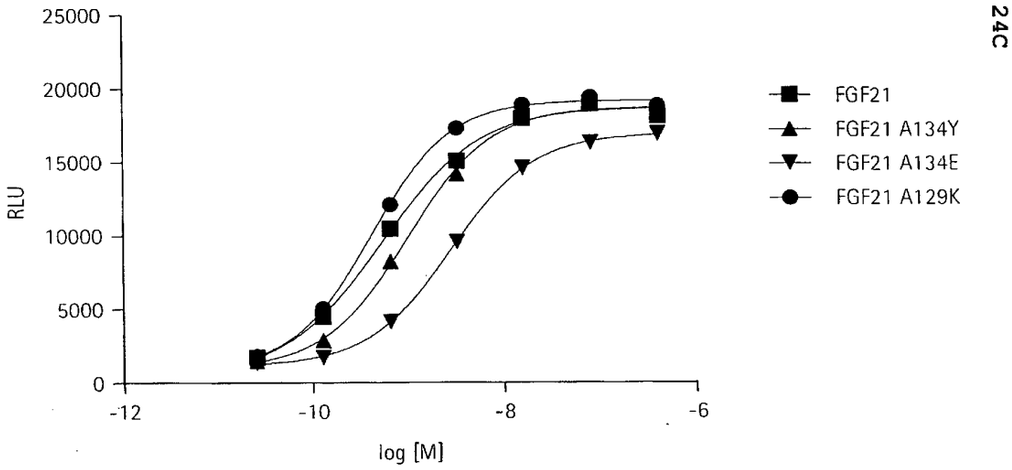
000274

Figura 24B



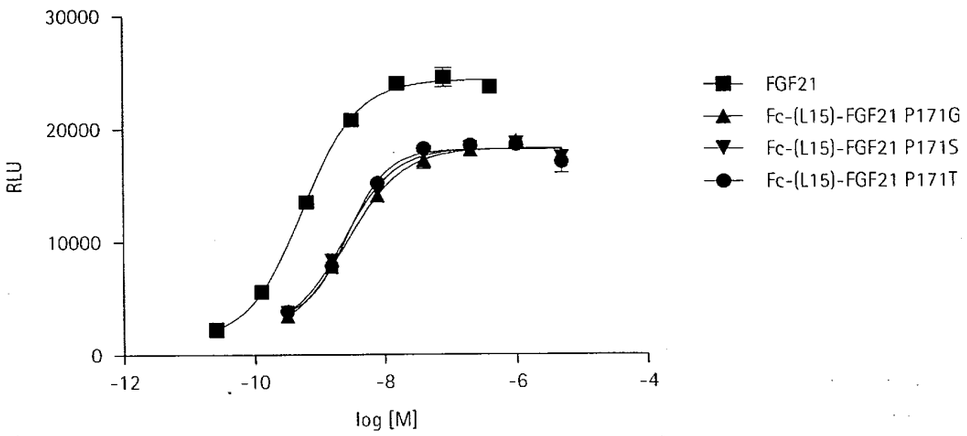
000275

Figura 24C



92:000276

Figura 25A



000277

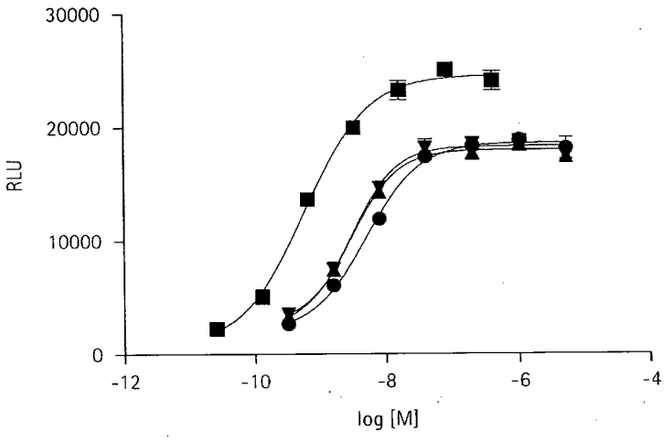
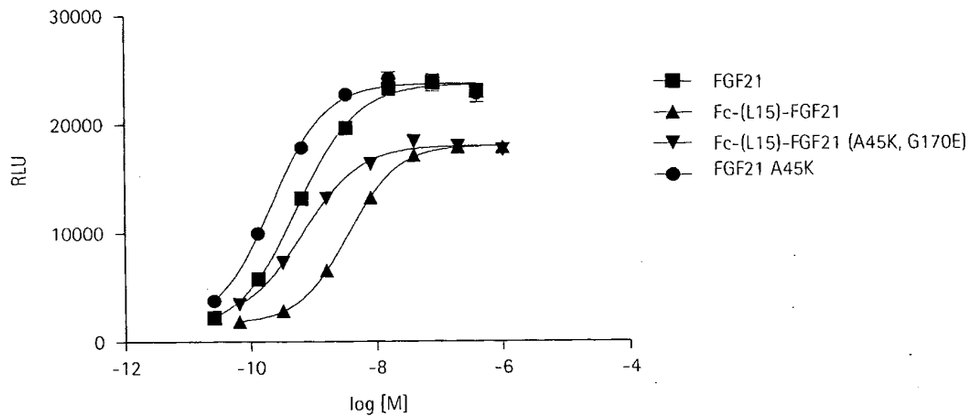


Figura 25B

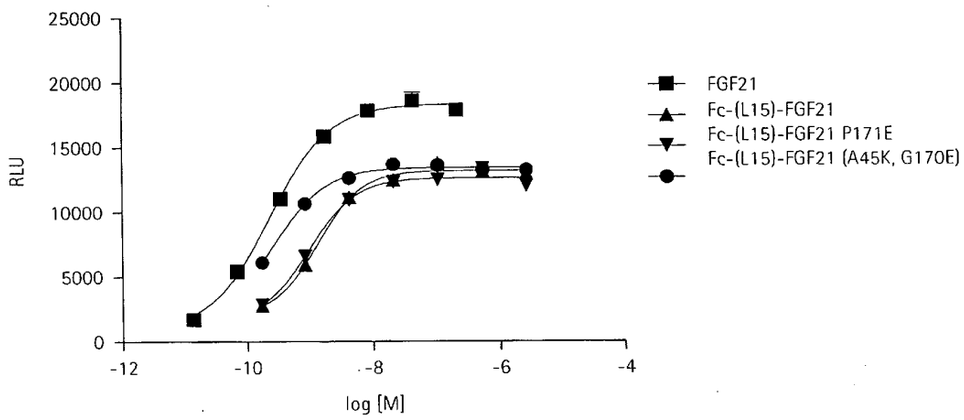
000278

Figura 25C



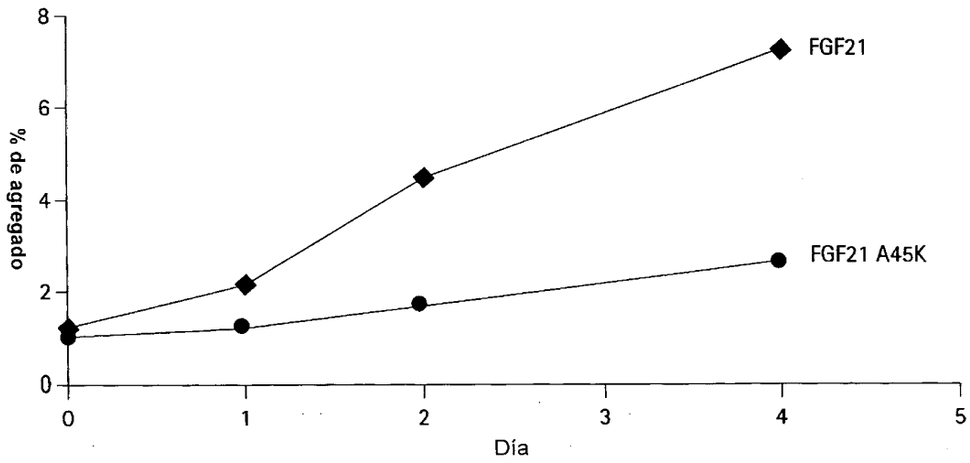
000279

Figura 25D



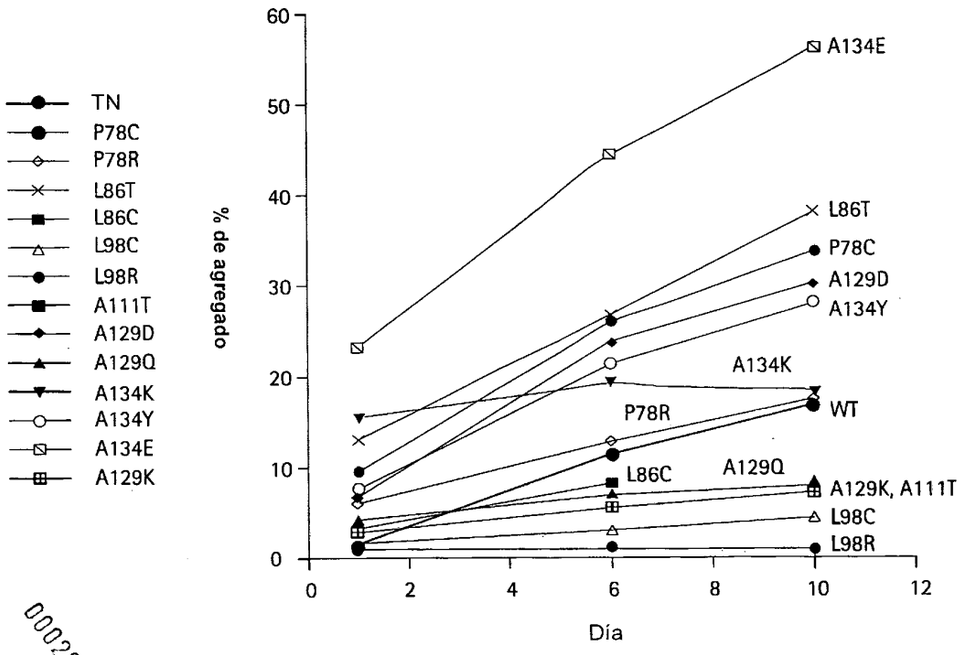
000280

Figura 26A



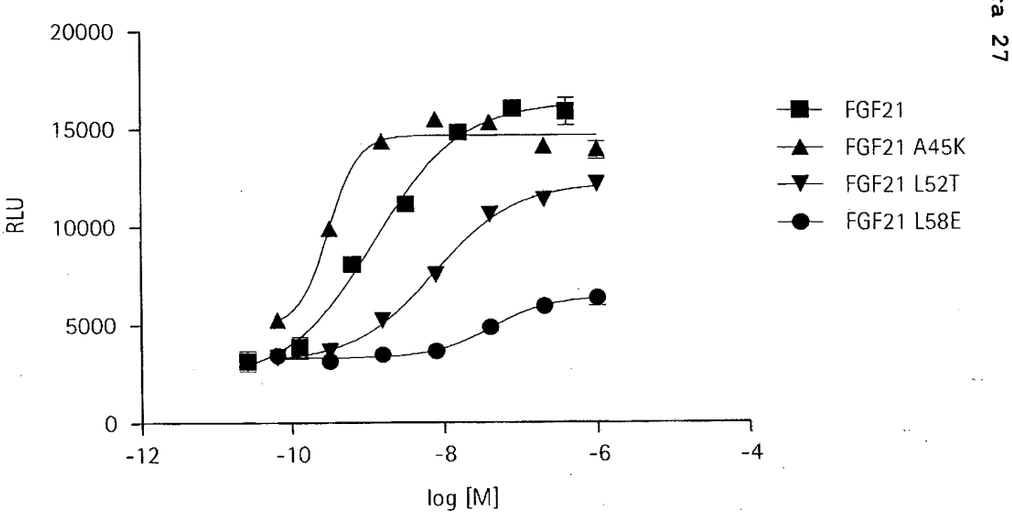
000281

Figura 26B



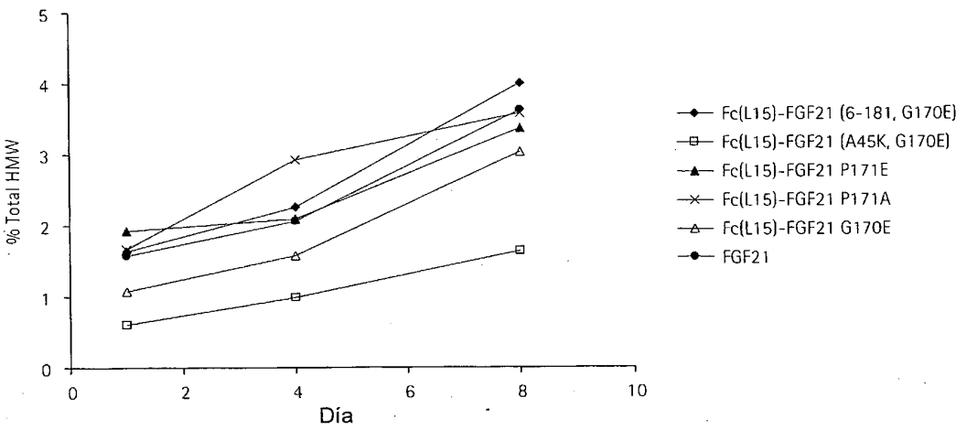
000282

Figura 27



000283

Figura 28A

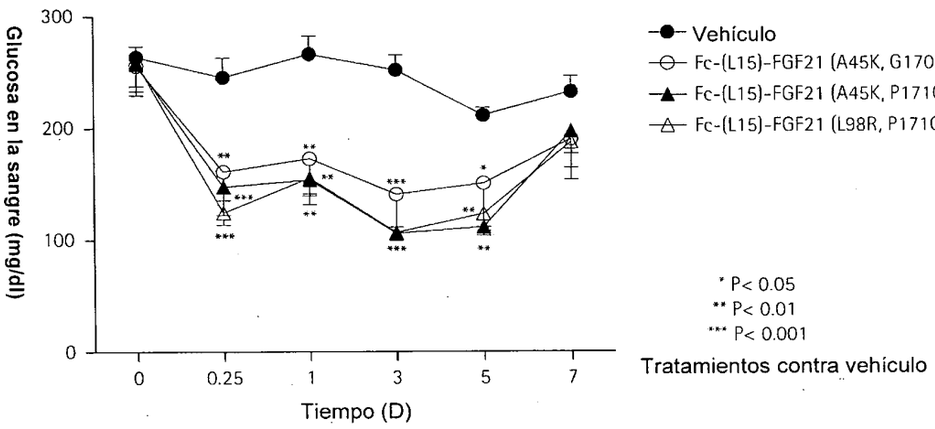


000284

Figura 28B

000285

Figura 29



* P< 0.05
** P< 0.01
*** P< 0.001
Tratamientos contra vehículo

000286

Figura 30

20000
15000
10000
5000
0
RLU
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
-5
log [M]
FGF21
Fc-(L15)-FGF21
Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)

Figura 31A

000288

Figura 31B

000289

Figura 32

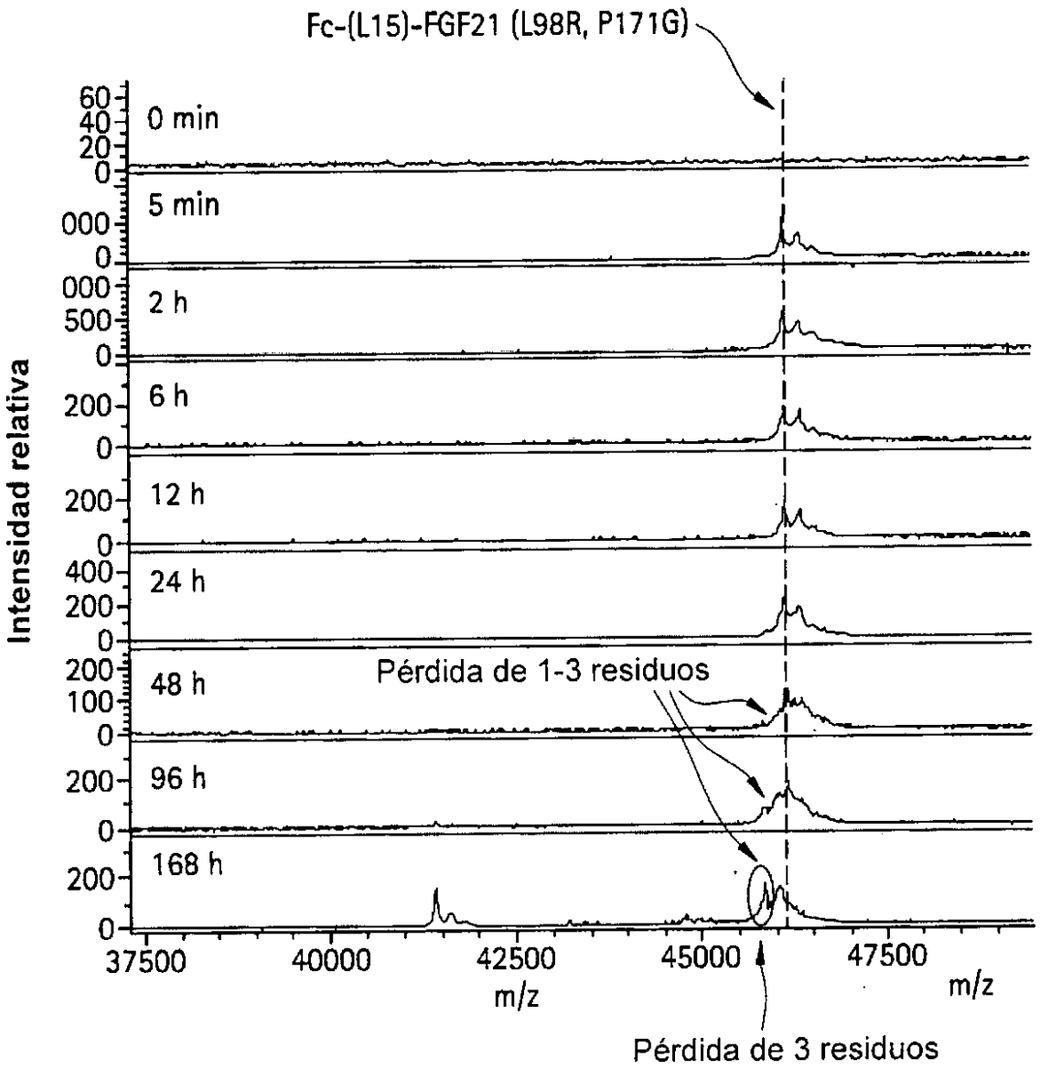

Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
0 min
5 min
2 h
6 h
12 h
24 h
48 h
96 h
168 h
Intensidad relativa
Pérdida de 1-3 residuos
Pérdida de 3 residuos
37500
40000
42500
45000
47500
m/z
m/z

Figura 33

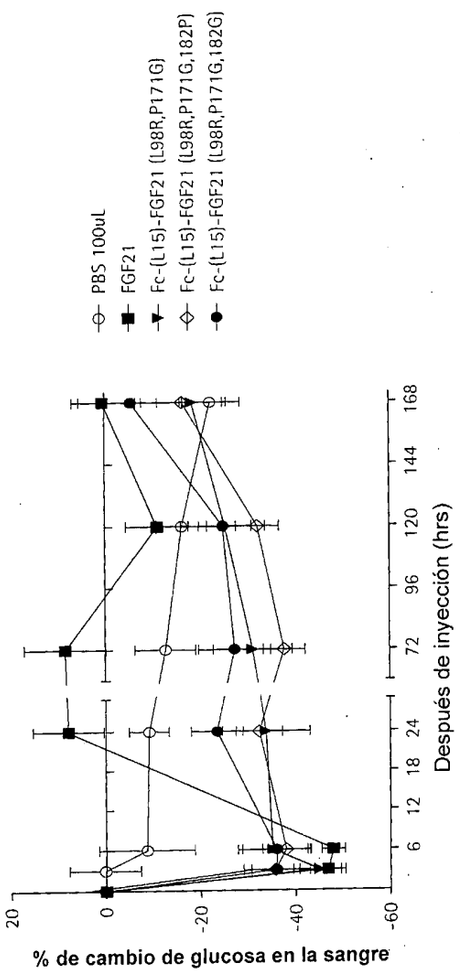

PBS 100uL
FGF21
Fc-(L15)-FGF21 (L98R,P171G)
Fc-(L15)-FGF21 (L98R,P171G,182P)
Fc-(L15)-FGF21 (L98R,P171G,182G)
20
0
-20
-40
-60
% de cambio de glucosa en la sangre
6
12
18
24
72
96
120
144
168
Después de inyección (hrs)

Figura 34

000292

Figura 35

000293

Figura 36

000284

Figura 37

000295

Figura 38A

000296

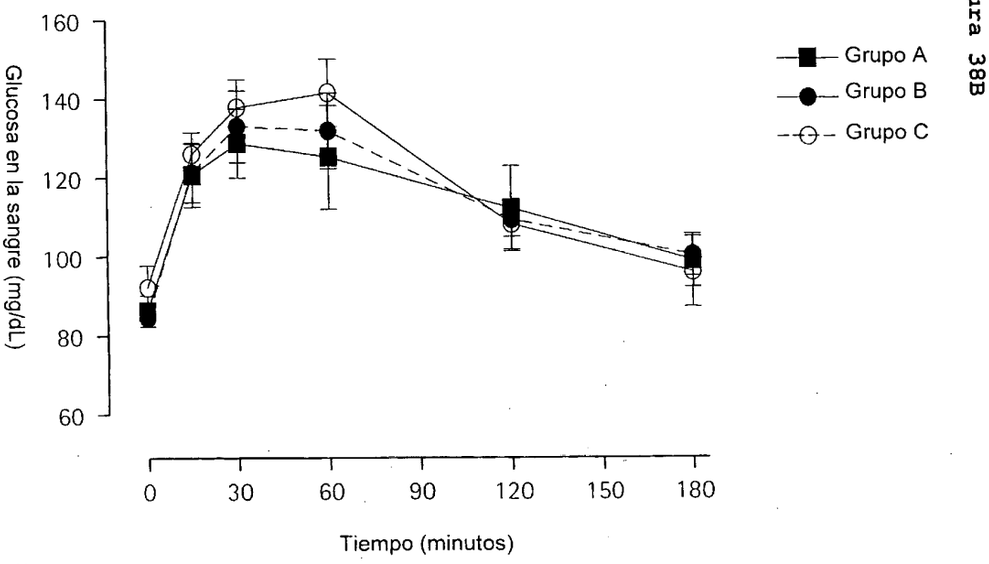
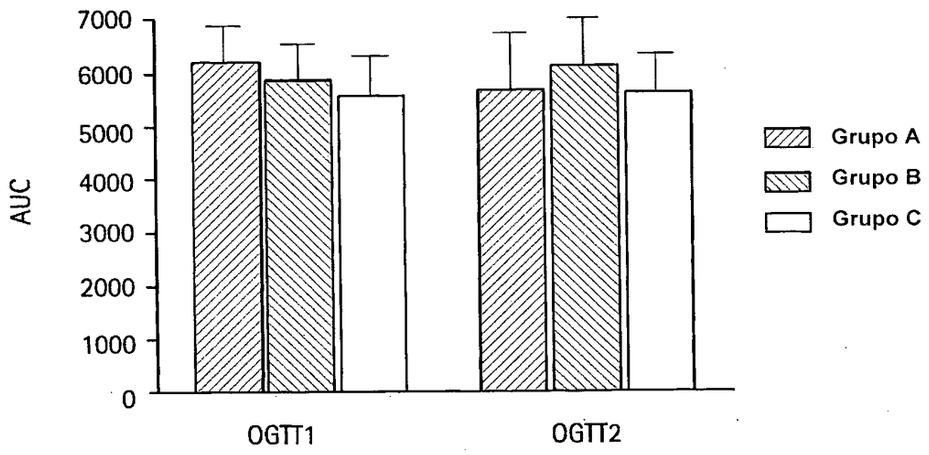


Figura 38B

000297

Figura 38C

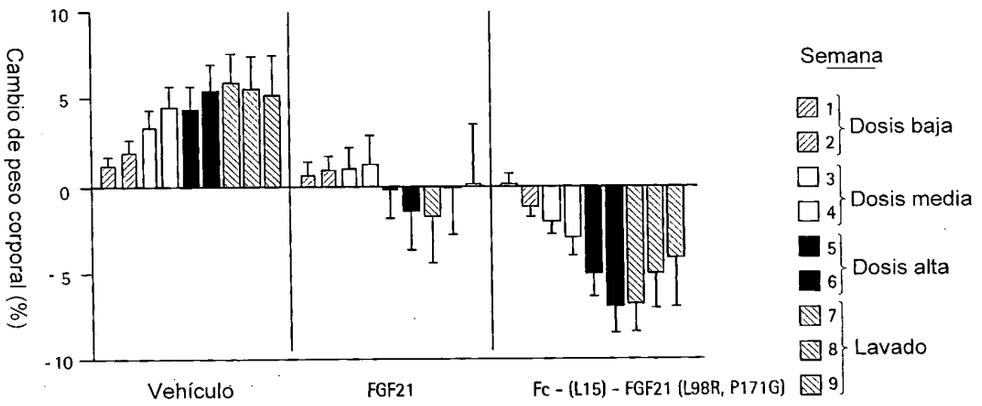


000298

Figura 38D

000299

Figura 39

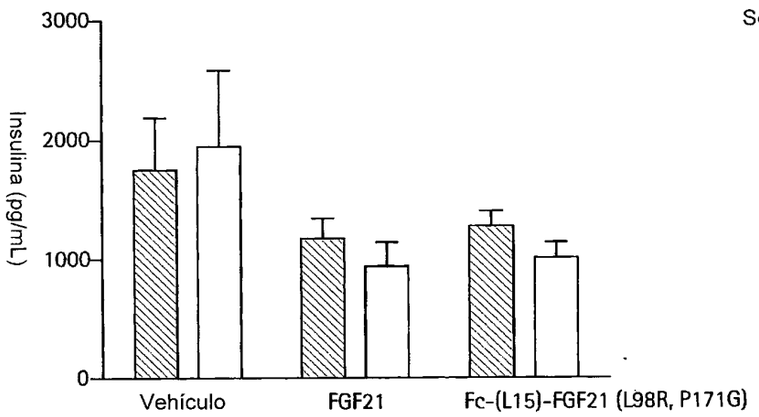


000300

Figura 40

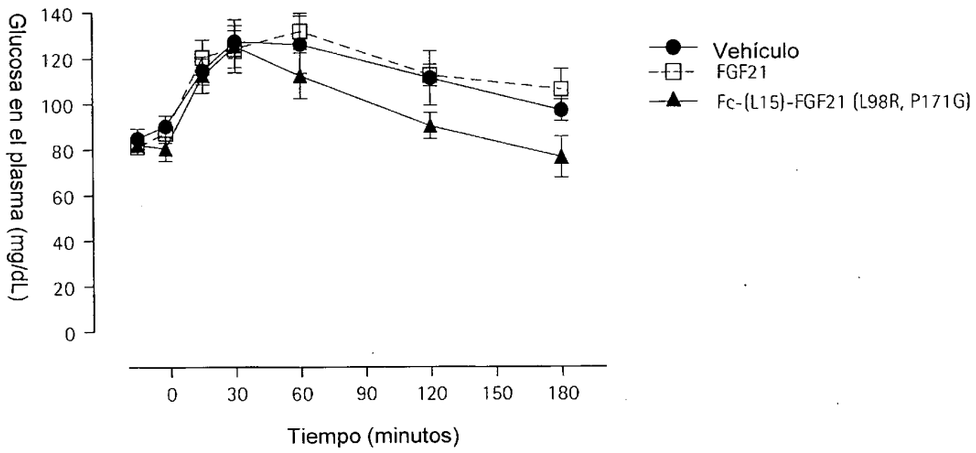
000301

Figura 41



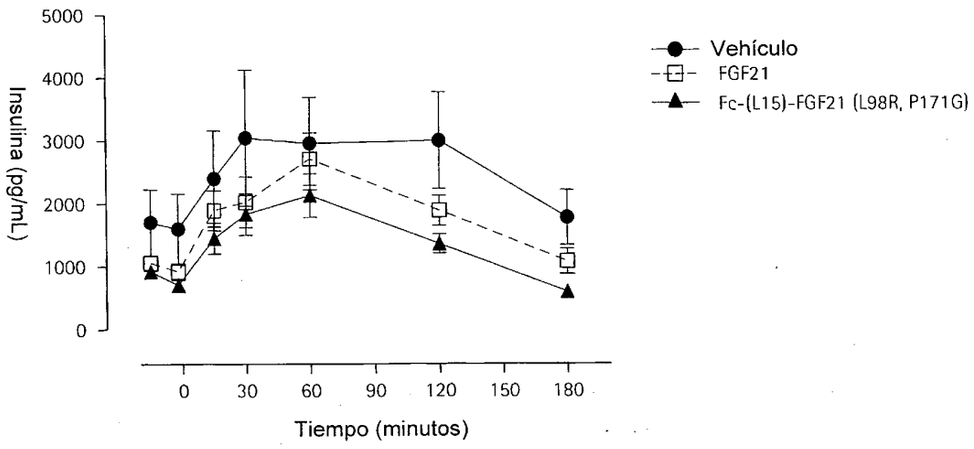
000302

Figura 42



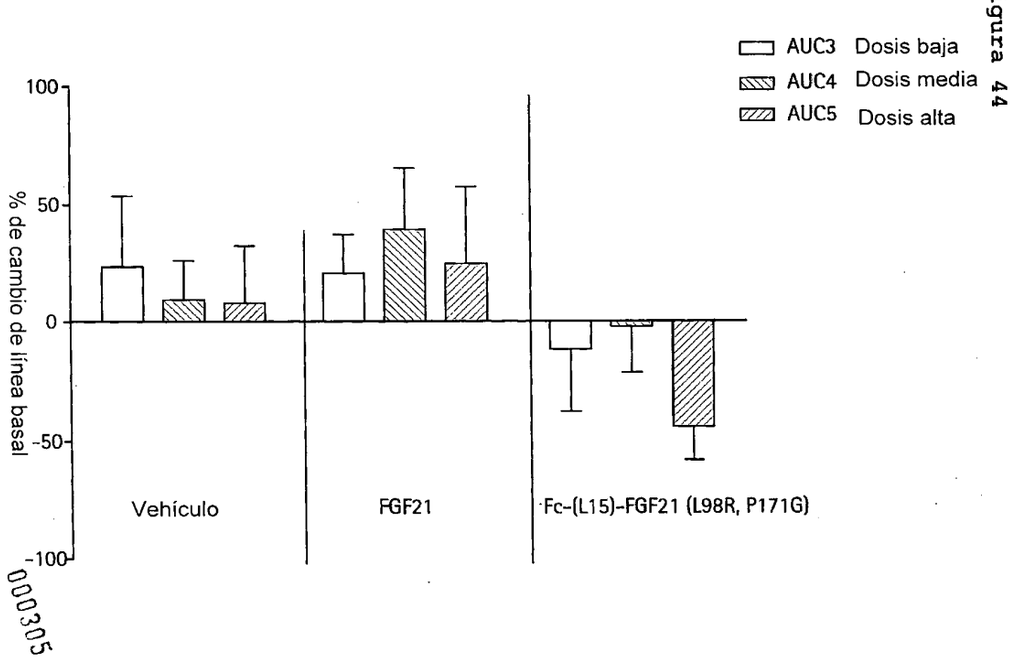
000303

Figura 43



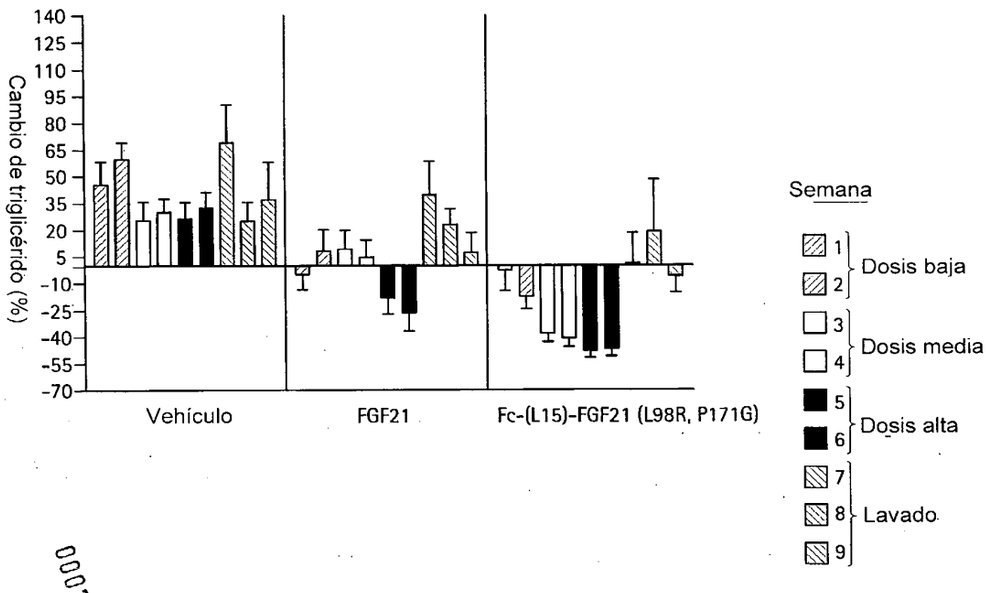
000304

Figura 44



000305

Figura 45



000306

Figura 46

000307

Figura 47

000308

Figura 48

000309

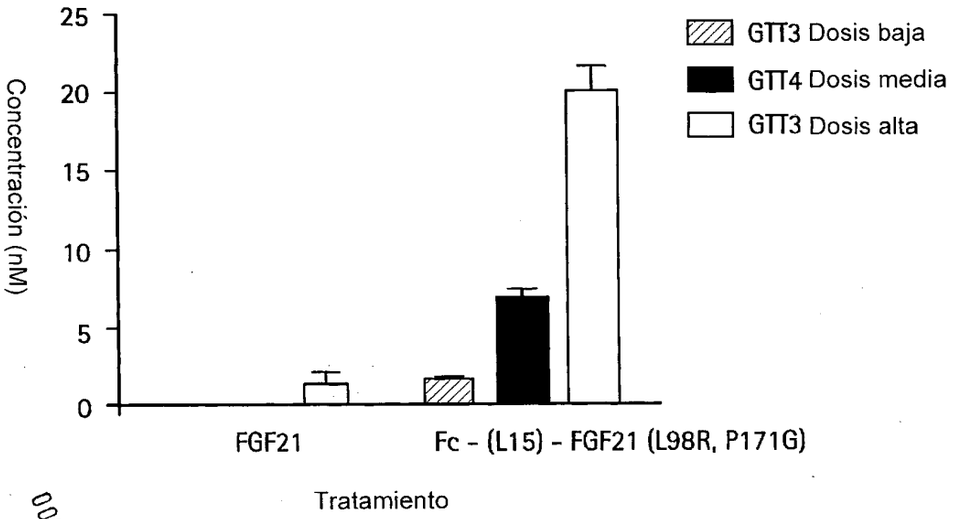


Figura 49

000310

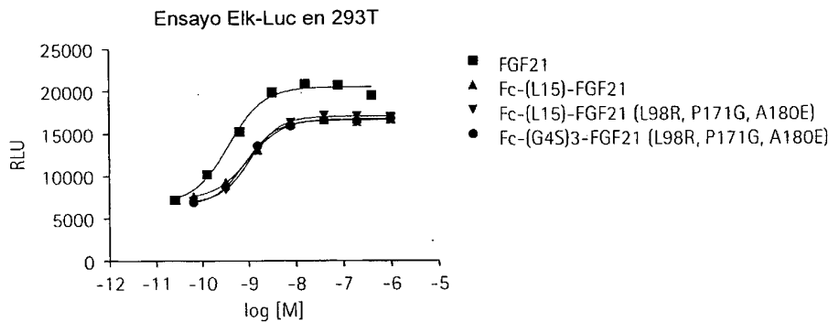
Figura 50

Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A190E)

MDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*GGGGSGGGGSGG*
*GGS*HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQR
PDGALYGSLHFDPEACSFRELLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQP
PDVGSSDPLSMVGGSQGRSPSYES

000311

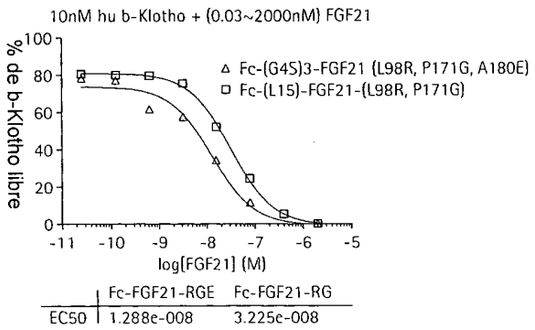
Figura 51



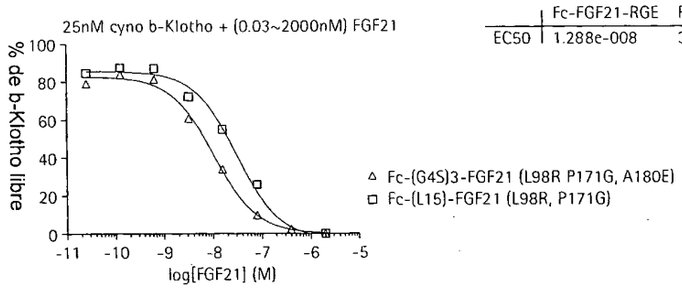
	FGF21	Fc-(L15)-FGF21	Fc-L15-FGF21(L98R/P171G/A180E)	Fc-G4S-FGF21(L98R/P171G/A180E)
EC50	3.831e-010	1.034e-009	1.095e-009	8.515e-010

000312

Figura 52



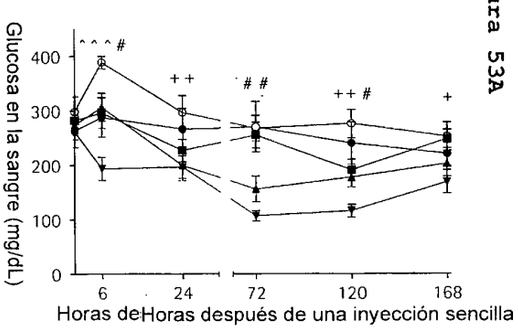
	Fc-FGF21-RGE	Fc-FGF21-RG
EC50	1.288e-008	3.225e-008



	Fc-(L15)-FGF21 (L98R P171G, AE	Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G)
EC50	1.038e-008	3.081e-008

0000313

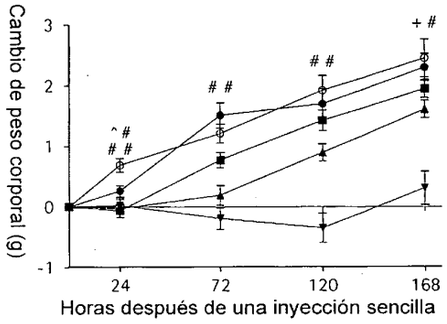
Figura 53A



- PBS 100uL
- Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) 0.1mg/kg
- Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) 0.3mg/kg
- Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) 1mg/kg
- Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) 3mg/kg

^ P < 0.05
+ P < 0.01
P < 0.001

Figura 53B



- PBS 100uL
- Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) 0.1mg/kg
- Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) 0.3mg/kg
- Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) 1mg/kg
- Fc-(G4S)3-FGF21 (L98R, P171G, A180E) 3mg/kg

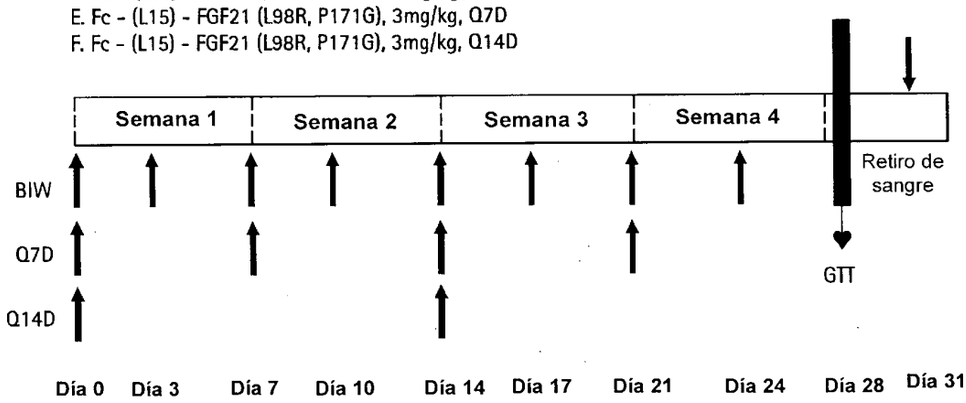
^ P < 0.05
+ P < 0.01
P < 0.001

93/120

000314

Figura 54

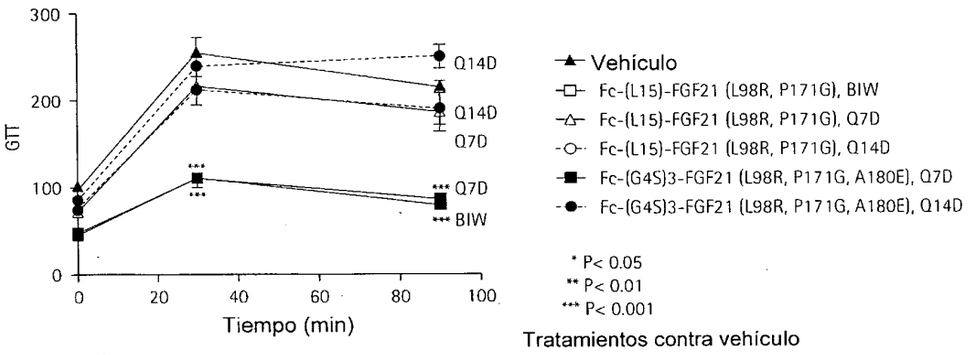
A. Vehículo Q7D
B. Fc - (G4S)3 - FGF21 (L98R, P171G, A180E), 3mg/kg, Q7D
C. Fc - (G4S)3 - FGF21 (L98R, P171G, A180E), 3mg/kg, Q14D
D. Fc - (L15) - FGF21 (L98R, P171G), 3mg/kg, BIW
E. Fc - (L15) - FGF21 (L98R, P171G), 3mg/kg, Q7D
F. Fc - (L15) - FGF21 (L98R, P171G), 3mg/kg, Q14D



Solución amortiguadora: Tris 10 mM, sacarosa al 2.2%, Sorbitol al 3.3%; pH 8.5

000315

Figura 55

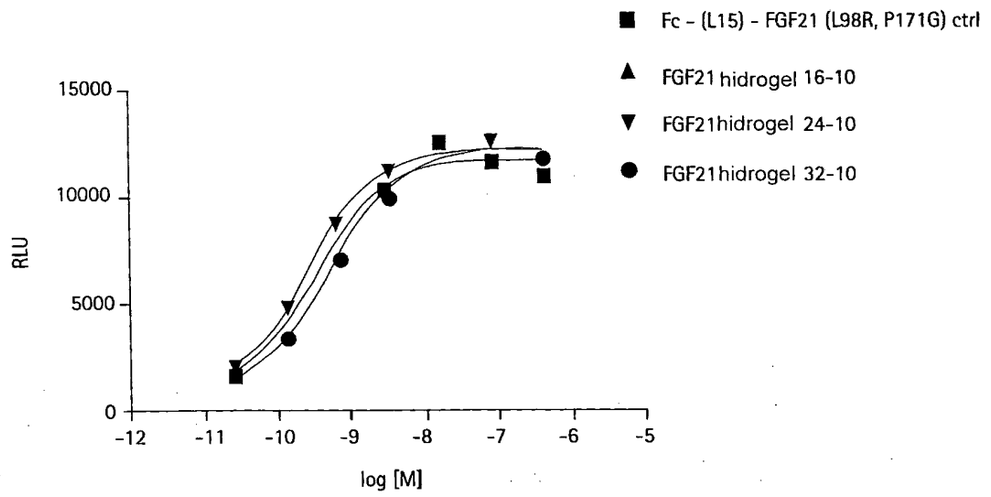


000316

Figura 56

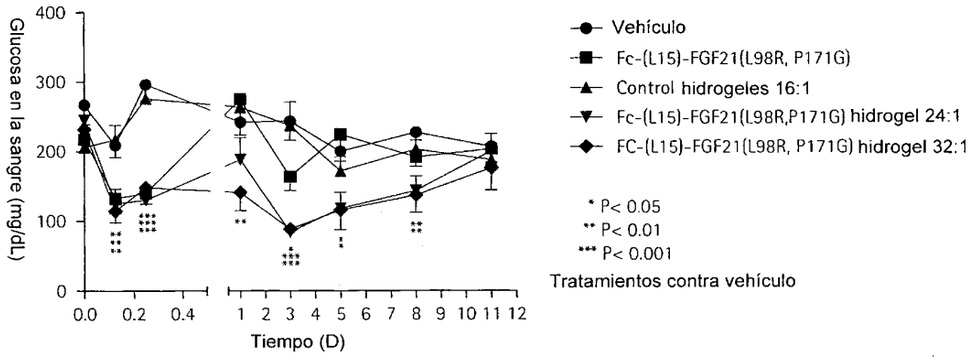
000317

Figura 57



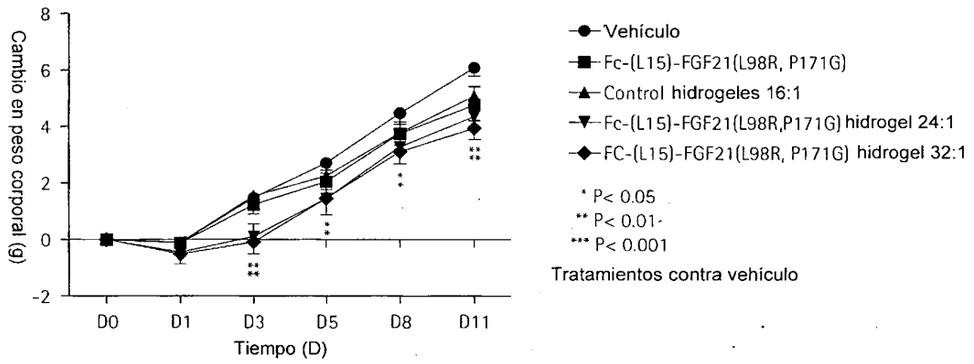
000318

Figura 58



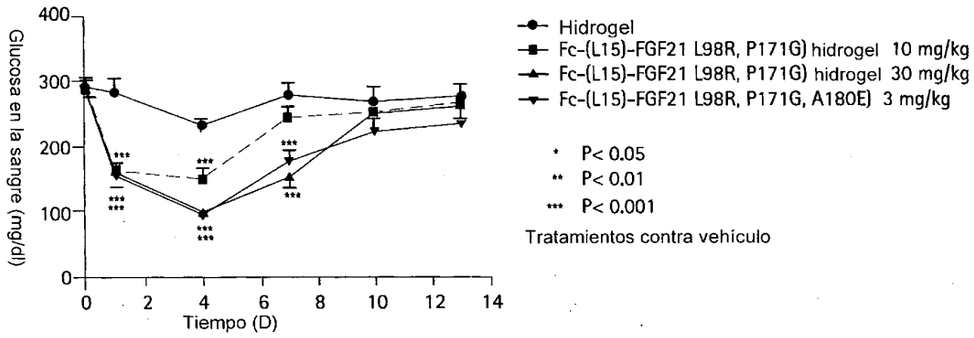
000319

Figura 59



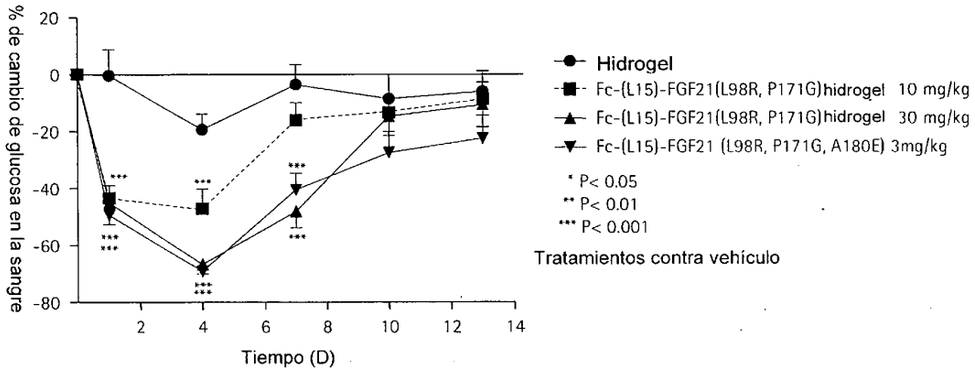
000320

Figura 60



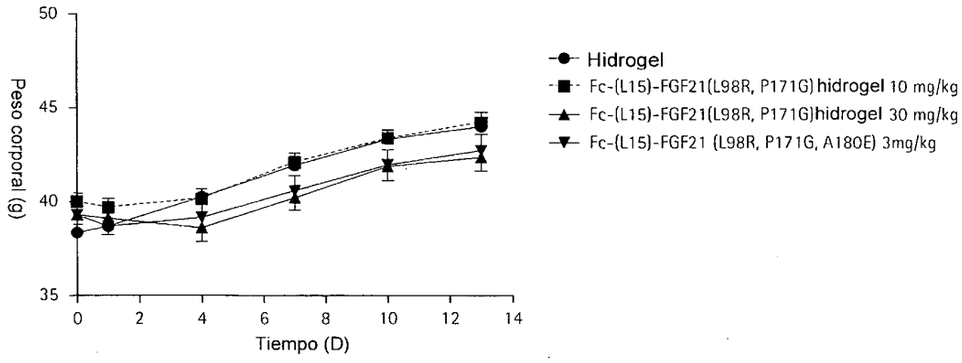
000321

Figura 61



000322

Figura 62



000323

Figura 63

000324

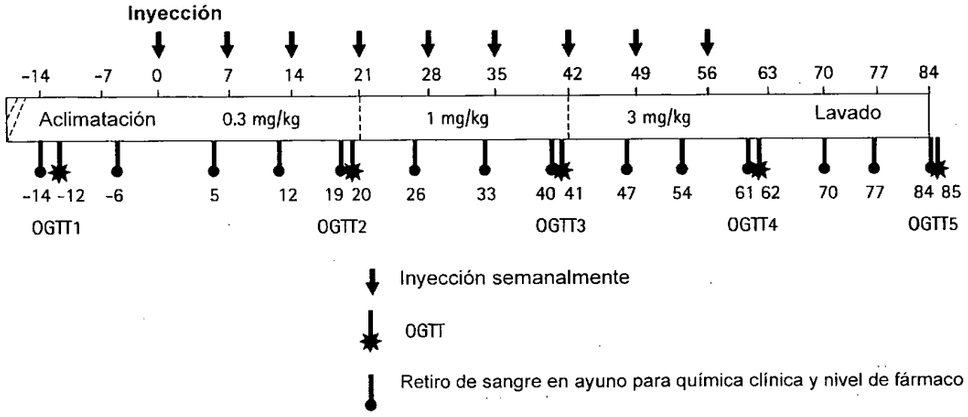
Figura 64

Grupos de dosificación, dosificación semanal

Vehículo (n=14)

Fc - (L15) - FGF21 (L98R, P171G) (0.3; 1; 3 mg/kg, que aumenta cada 3 semanas, n = 13)

Fc - (G4S)3 - FGF21 (L98R, P171G, A180E) (0.3; 1; 3 mg/kg, que aumenta cada 3 semanas, n = 13)



000325

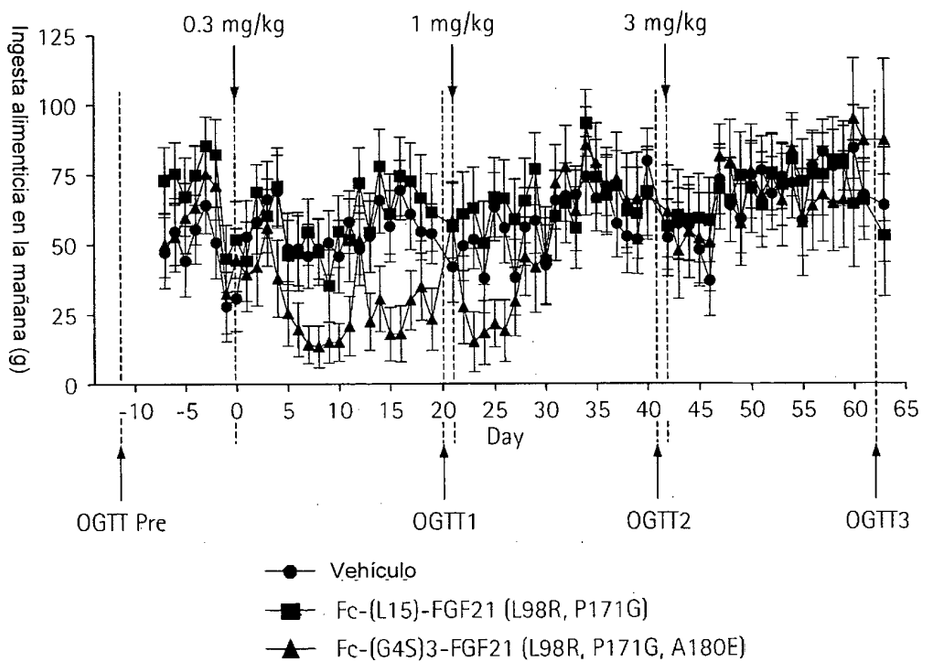


Figura 65

000326

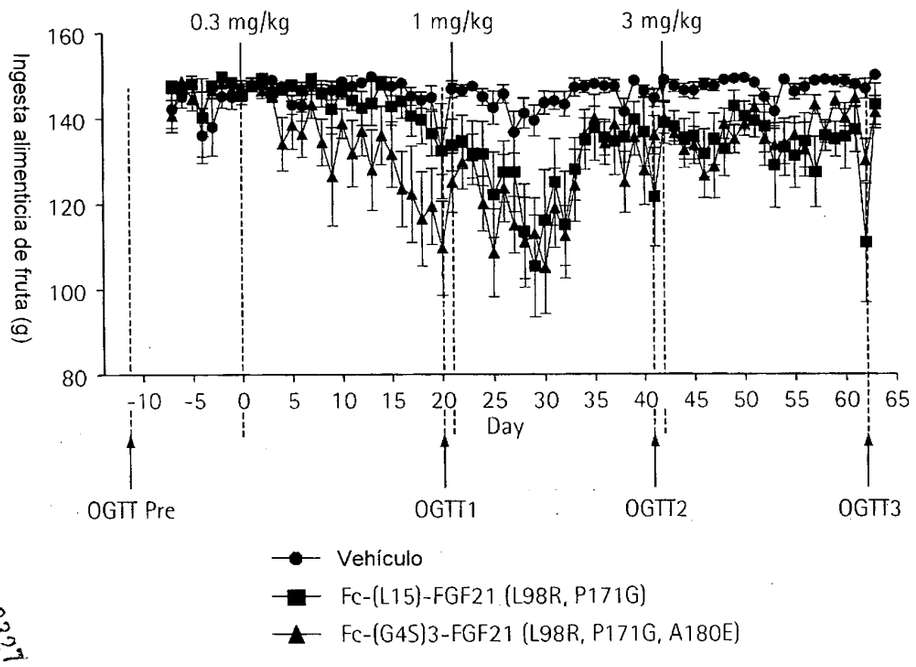


Figura 66

000327

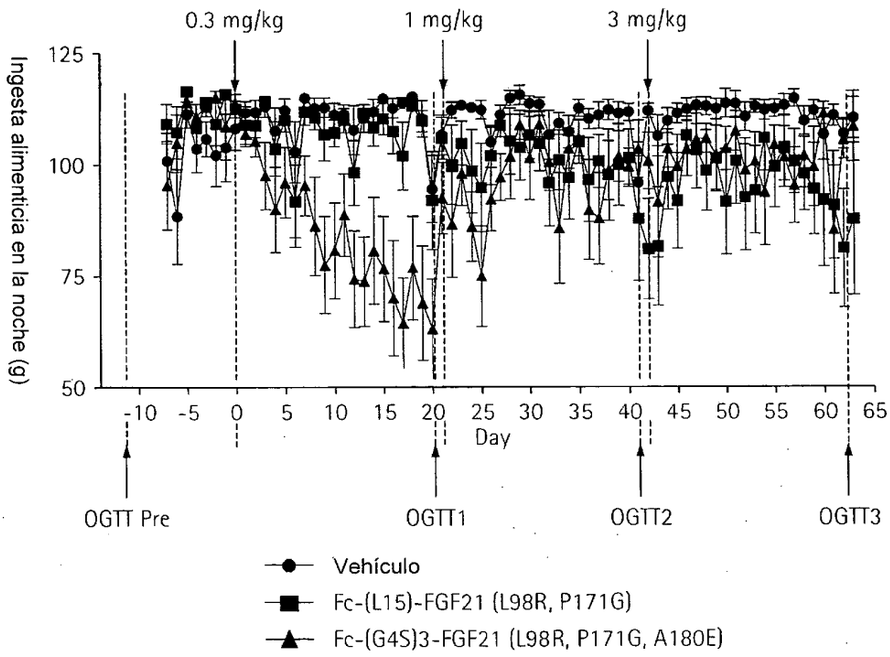


Figura 67

000378

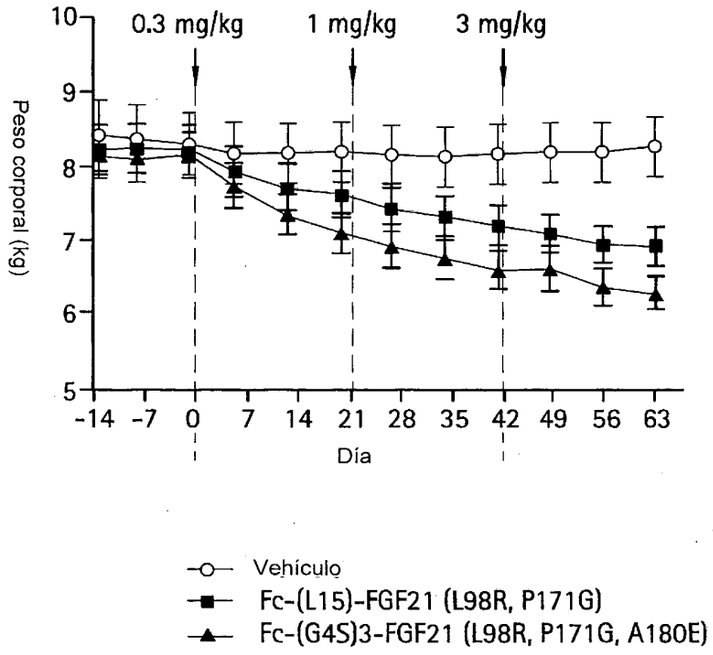
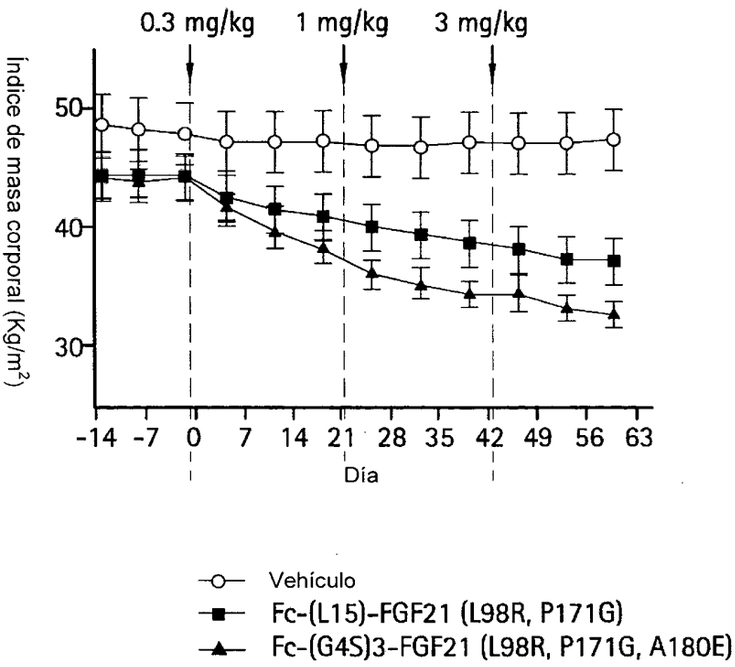


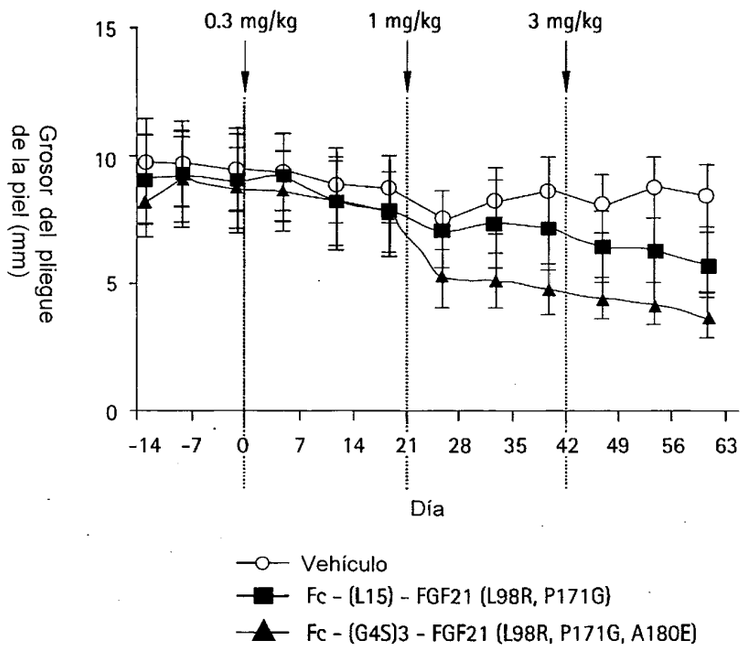
Figura 68

000329

Figura 69



000330



Vehículo
Fc - (L15) - FGF21 (L98R, P171G)
Fc - (G4S)3 - FGF21 (L98R, P171G, A180E)

Figura 70

000331

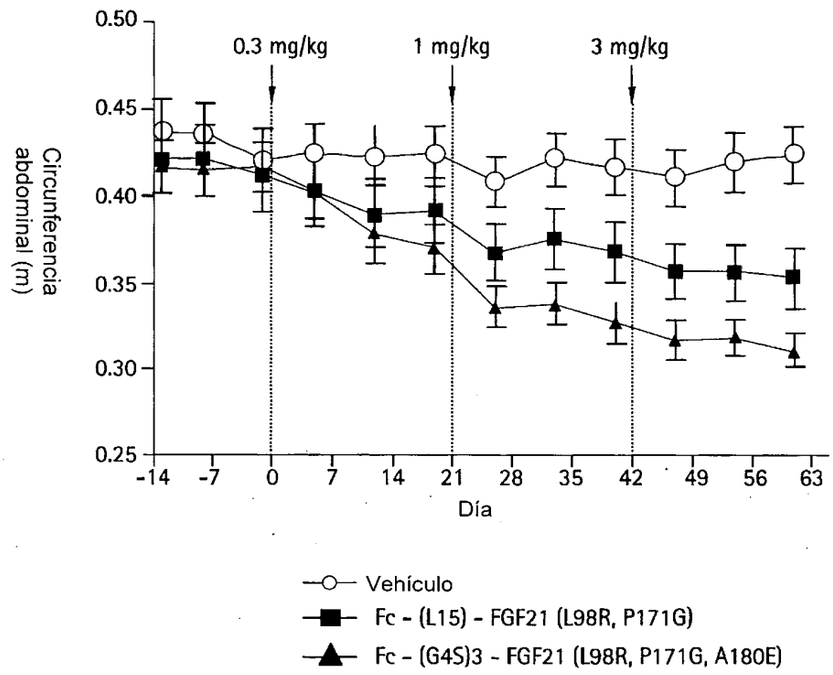


Figura 71

000332

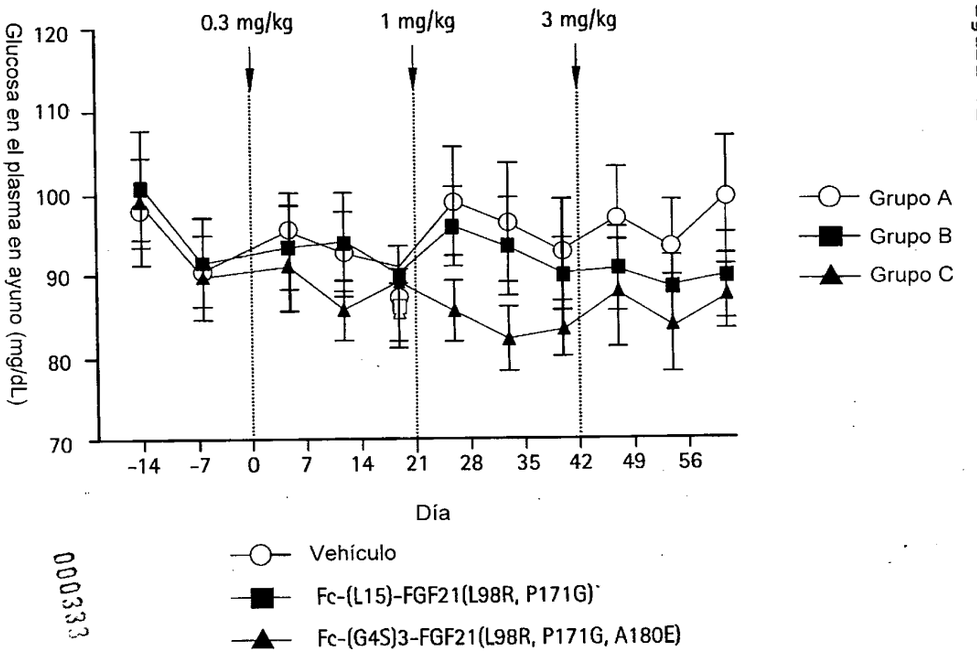
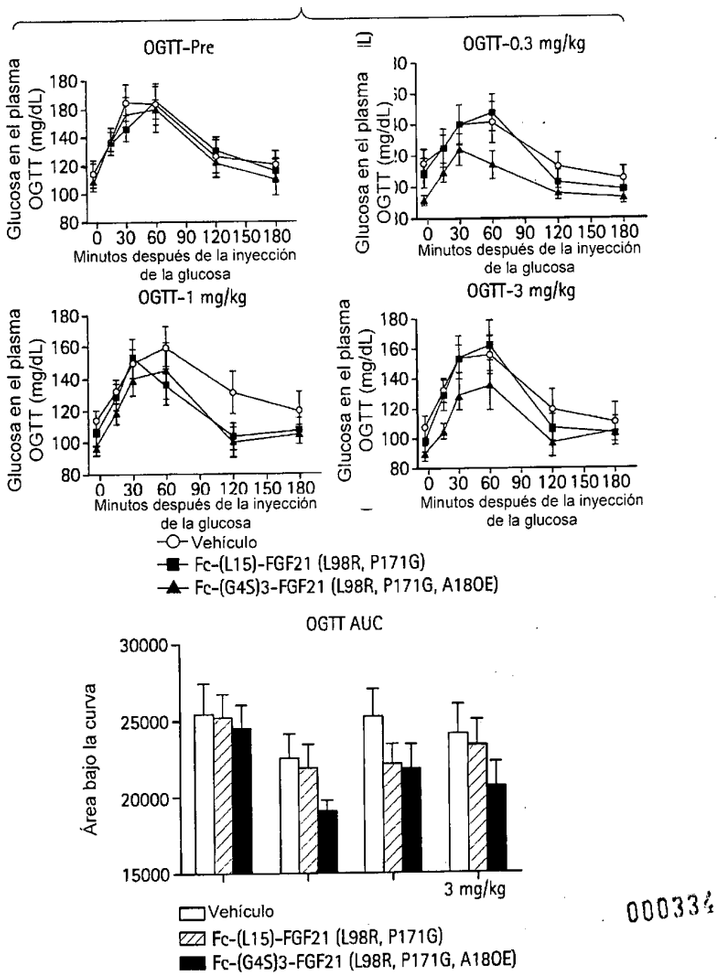


Figura 72

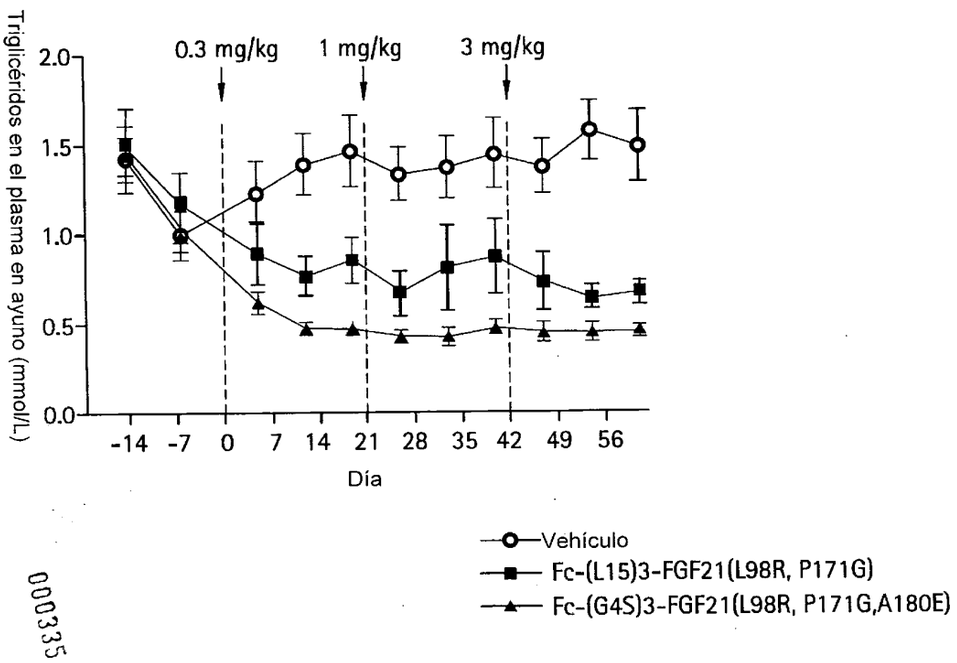
000333

Figura 73



000334

Figura 74



000335

Figura 75

000336

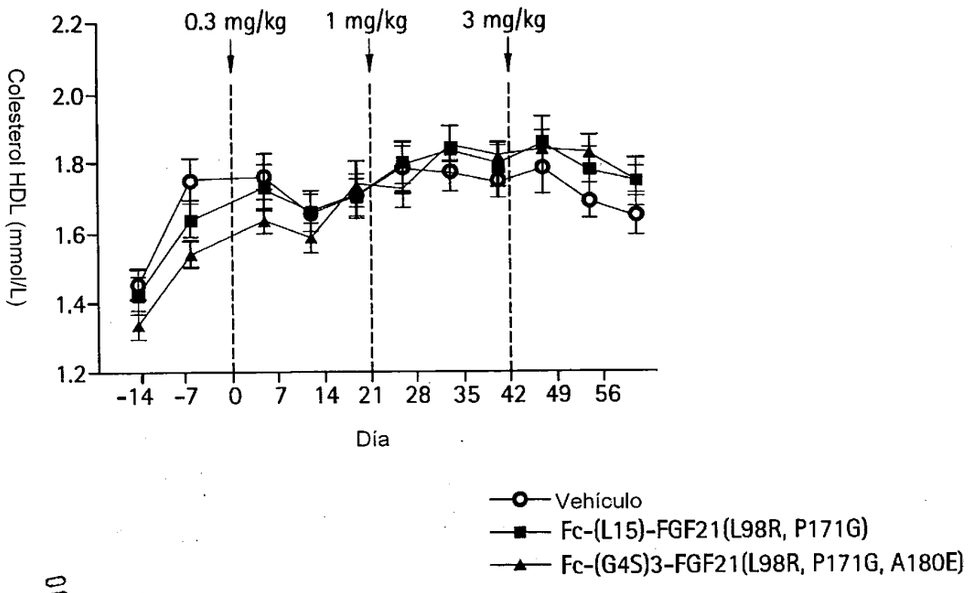


Figura 76

000337

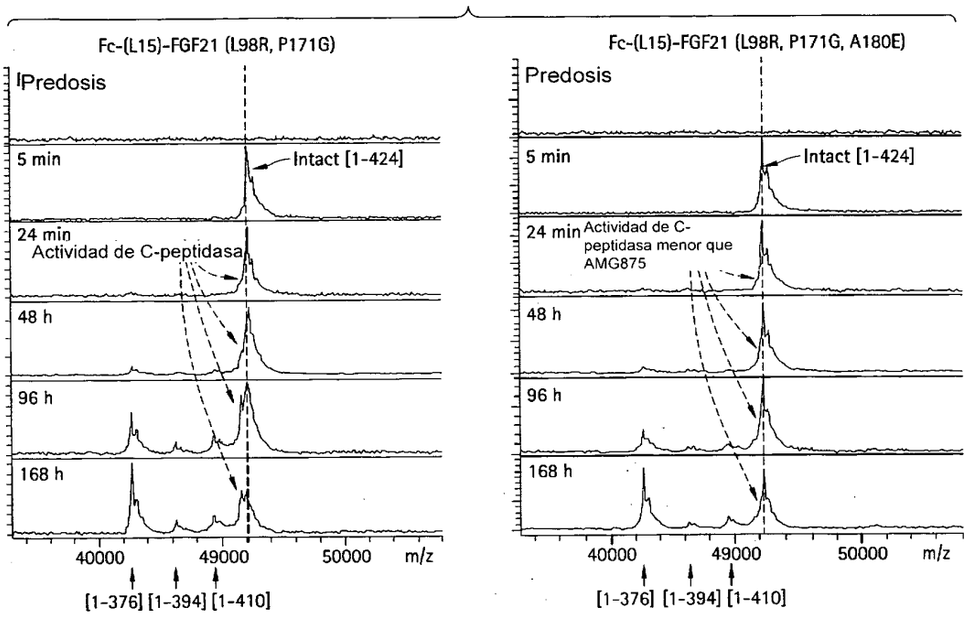
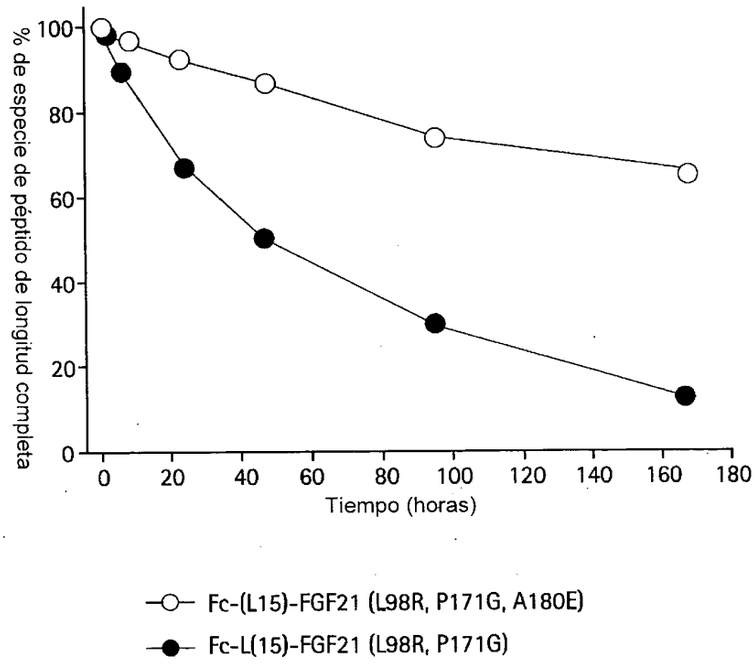


Figura 77

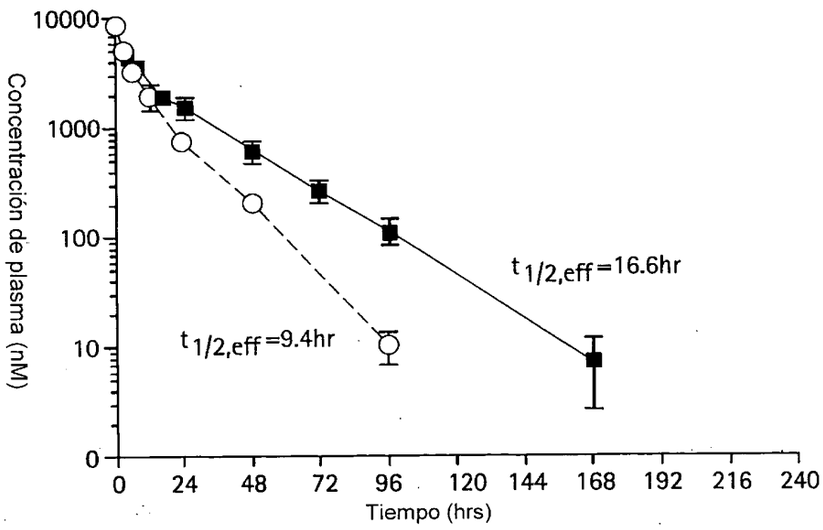
000338

Figura 78



000339

Figura 79

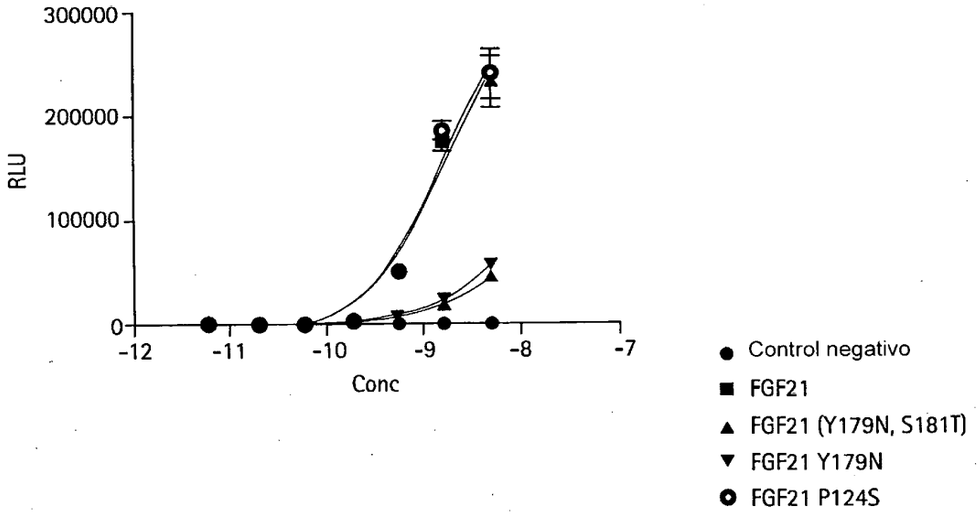


Fc-(L15)-FGF21 (L98R, P171G, A180E)

Fc-L(15)-FGF21 (L98R, P171G)

000340

Figura 80



000341

LISTADO DE SECUENCIAS

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

<120> Mutantes FGF21 y Usos de los Mismos

<130> A-1429-WO-PCT2

<160> 165

<170> PatentIn versión 3.5

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

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

<400> 1

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

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

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

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

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

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

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

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

gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg       432
Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
    130                 135                 140
cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac cct gca ccc cga gga       480
His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145                 150                 155                 160

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

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

000342

```
          180                 185                 190

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

tcc tga                                                               630
Ser
```

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

<400> 2

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser
```

000343

<210> 3
<211> 546

<212> ADN
<213> Homo sapiens

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

<400> 3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 4
<211> 181
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 4

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

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

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

000344

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

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

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

<400> 5

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

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

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

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

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

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

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

000345

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

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

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

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

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

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

tcc tga                                                             630
Ser
```

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

<400> 6

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

000346

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

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


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


Ser
```

<210> 7
<211> 546
<212> ADN
<213> Homo sapiens

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

<400> 7

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

000347

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

<400> 8

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Ser Tyr Ala Ser
180

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

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

<400> 9

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu
1 5 10

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

000348

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

<400> 10

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ccg ggt aaa                                                             681
Pro Gly Lys
225
```

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

<400> 11

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Lys
225

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

<220>
<223> Cebador PCR

<400> 12
aggaggaata acatatgcat ccaattccag attcttctcc 40

<210> 13
<211> 33
<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Cebador PCR

<400> 13
tagtgagctc gaattcttag gaagcgtagc tgg 33

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

<220>
<223> Cebador PCR

<400> 14
ggagatatac atatgccaat tccagattct tctccattat t 41

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

<220>
<223> Cebador PCR

<400> 15
catatgtata tctccttctt aaagttaaac aaaa 34

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

<220>
<223> Cebador PCR

<400> 16
aaaacaaatt gaaattcttc ctctatatgt atac 34

<210> 17
<211> 63
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> hebra sentido de una porción de un constructo de expresión FGF21

<400> 17
ttttgtttaa ctttaagaag gagatataca tatgcatcca attccagatt cttctccatt 60

att 63

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

<220>
<223> hebra antisentido de una porción de un constructo de expresión FGF21

<400> 18
aaaacaaatt gaaattcttc ctctatatgt atacgtaggt taaggtctaa gaagaggtaa 60

taa 63

<210> 19
<211> 34
<212> ADN

000351

<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Cebador PCR

<400> 19
aggaggaata acatatggac aaaactcaca catg 34

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

<220>
<223> Cebador PCR

<400> 20
ggatccacca ccaccgctac cac 23

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

<220>
<223> Cebador PCR

<400> 21
ggtggtggtg gatcccatcc aattccagat tcttctcca 39

<210> 22
<211> 33
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Cebador PCR

<400> 22
tagtgagctc gaattcttag gaagcgtagc tgg 33

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

<220>
<223> Cebador PCR

<400> 23
atggtggaac cttcccaggg ccgaagc 27

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

<220>
<223> Cebador PCR

<400> 24
ggaaggttcc accatgctca gagggtccga 30

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

<220>
<223> hebra sentido de una porción de un constructo de expresión FGF21

000352

<400> 25
ctcctcggac cctctgagca tggtgggacc ttcccagggc cgaagcccca 50

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

<220>
<223> Cebador PCR

<400> 26
agcctgggag actcgtacca ccttggaagg 30

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

<220>
<223> hebra antisentido de una porción de un constructo de expresión FGF21

<400> 27
gaggagcctg ggagactcgt accaccctgg aagggtcccg gcttcggggt 50

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

<220>
<223> Ligador G5SG3SG4S (L15)

<400> 28

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

<210> 29
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Ligador G4

<400> 29

Gly Gly Gly Gly
1

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

<220>
<223> Ligador G5

<400> 30

Gly Gly Gly Gly Gly
1 5

000353

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

<220>
<223> Ligador (G4S)3

<400> 31

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

<210> 32
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Ligador G3KG4

<400> 32

Gly Gly Gly Lys Gly Gly Gly Gly
1 5

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

<220>
<223> ligador G3NGSG2

<400> 33

Gly Gly Gly Asn Gly Ser Gly Gly
1 5

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

<220>
<223> CLigador G3G4

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

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

<220>
<223> ligador GPNG2

<400> 35

Gly Pro Asn Gly Gly
1 5

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

<220>
<223> FGF21 RG

000354

<220>

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

<400> 36
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa 48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgt gac 384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125
cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc 432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

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

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

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

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

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 37

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

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

<220>
<223> FGF21 RGE

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

<400> 38

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

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

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

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

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

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

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

000356

```
           100                 105                 110

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

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

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

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

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

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

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 39

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

000357

```
                165                 170                 175

Pro Ser Tyr Glu Ser
            180
```

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

<220>
<223> WT21-L15-Fc

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1272)

<400> 40

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc       672
```

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tat     1152

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

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



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

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

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

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 41

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

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

000359

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
```

325 330 335

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

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

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

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

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

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
420

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

<220>
<223> Fc L15 RG

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

<400> 42

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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


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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

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

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 43

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
245 250 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
260 265 270

000363

```
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 44
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-(G4S)3-RG

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

<400> 44

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

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

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

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

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

000364

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

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

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

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

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

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

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

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

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

tct ccg ggt aaa ggt ggt ggt ggt tcc ggt ggc ggc ggc tct ggt ggt      720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt ggc agc cat ccg atc ccg gac tct tct ccg ctg ctg cag ttc ggt      768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggt cag gtt cgt cag cgt tac ctg tac acc gac gac gcg cag cag acc      816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gag gcg cac ctg gag atc cgt gaa gac ggt acc gtt ggt ggt gcg gcc      864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag tct ccg gaa tct ctg ctg cag ctg aaa gcc ctg aaa ccg ggt      912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt atc cag atc ctg ggc gtt aaa acc tct cgt ttc ctg tgc cag cgt      960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

ccg gac ggc gcc ctg tac ggt tct ctg cac ttc gac ccg gag gcg tgc     1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

tct ttt cgt gaa cgt ctg ctc gaa gac ggt tac aac gtt tac cag tct     1056
Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gag gcg cac ggt ctg ccg ctg cac ctg ccg ggt aac aaa tct ccg cac     1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgt gac ccg gcg cca cgt ggt cct gcg cgt ttc ctg cca ctg ccg ggc     1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
```

000365

```
    370                 375                 380

ctg ccg cct gcg cct cct gaa ccg cct ggt atc ctg gct ccg cag ccg      1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

cca gac gtt ggt tct tct gac ccg ctg tct atg gtt ggt ggc tct cag      1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggt cgt tct ccg tct tac gcc tct taa                                 1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 45
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 45

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

000366

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

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 46
<211> 1275
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Fc-(G4S)3-RGE

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

<400> 46

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

000367

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gac ggg acg gtg ggg ggt gct gct         864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285
gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg ggt         912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

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

000368

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

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

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

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

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

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

ggc cga agc ccc agc tac gaa tcc taa                                 1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Glu Ser
            420
```

<210> 47
<211> 424
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 47

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
245 250 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
260 265 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
275 280 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Glu Ser
420

<210> 48
<211> 1275
<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-WT21

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

<400> 48

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335
agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

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

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

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

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

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 49
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 49

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380
```

```
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 50
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-G170E

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

<400> 50

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

000374

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380
ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

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

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 51
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 51

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

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
```

```
            20                  25                  30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320
```

000376

```
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 52
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-P171A

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

<400> 52

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

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

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

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

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

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

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

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

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

000377

```
   130                 135                 140

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

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


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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

000378

<210> 53

<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 53

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
245 250 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr

000379

260 265 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
275 280 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Ala Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 54
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-S172L
<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 54

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

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

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

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

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

000380

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

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

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

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

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

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

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

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

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


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

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

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

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

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

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

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

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

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

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc     1152
```

000381

```
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

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

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

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 55
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 55

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
```

195 200 205

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

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
245 250 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
260 265 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
275 280 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Leu Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 56
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-RGE

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

<400> 56
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg 48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1 5 10 15

000383

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ggc caa gtc cgg cag cgt tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca       816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270
gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gac ggg acg gtg ggg ggt gct gct       864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

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

gtt att caa atc ttg ggt gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg       960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
```

000384

```
305                 310                 315                 320

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

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

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

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

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

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

ggc cga agc ccc agc tac gaa tcc taa                                 1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Glu Ser
            420
```

<210> 57
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 57

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
245 250 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
260 265 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
275 280 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Glu Ser
420

000386

<210> 58
<211> 1275

<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-G170E P171A S172L

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

<400> 58

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

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

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

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


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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

000387

```
                245                 250                 255

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

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

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

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320
cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

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

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

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

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

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

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 59
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 59

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
245 250 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
260 265 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
275 280 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

```
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Ala Leu Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 60
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-G151A

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

<400> 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

000330

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac     1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365
cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc     1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

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

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

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 61
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 61

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320
```

000392

```
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Ala Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 62
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-G170E P171A

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

<400> 62

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

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

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

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

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

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

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

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

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
```

000393

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 63
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 63

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
245 250 255

000395

```
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Ala Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 64
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-P150A G151A I152V

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

<400> 64

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

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

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

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

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg       240
```

000396

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

000397

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

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca gcc gca gtt ctg gcc ccc cag ccc      1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Ala Ala Val Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

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

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                 1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 65
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 65

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

000398

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

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

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
245 250 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
260 265 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
275 280 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Ala Ala Val Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 66
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-G170E S172L

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

<400> 66
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg 48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

```
1               5                  10                  15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg       960
```

000409

```
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

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

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

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

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

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

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

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                 1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 67
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 67

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

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

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

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

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

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

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

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
```

130 135 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145 150 155 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
165 170 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
180 185 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
195 200 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
210 215 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
245 250 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
260 265 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
275 280 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Leu Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

000402

<210> 68

<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-G170A

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 68

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg        48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc        96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc       144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45


cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag       192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg       240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat       288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc       336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag       384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc       432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg       480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct       528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc       576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg       624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg       672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt       720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg       768
```

000403

```
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300
gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gct cct tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Ala Pro Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 69
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 69

```
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80
```

000404

```
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380
```

000405

```
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Ala Pro Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 70
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-G170C

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 70

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc         576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
```

000406

```
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg      624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg      672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt      720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg      768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca      816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct      864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga      912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg      960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc     1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc     1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350
gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac     1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc     1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc     1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg tgc cct tcc cag     1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Cys Pro Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 71
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 71

```
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15
```

000407

```
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320
```

000408

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Cys Pro Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 72
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-G170D

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 72

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg      48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc      96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc     144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag     192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg     240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat     288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc     336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag     384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125
```

000409

```
gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc        432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400
ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gac cct tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Asp Pro Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

000410

<210> 73
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 73

Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1 5 10 15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
20 25 30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
35 40 45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
50 55 60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65 70 75 80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
85 90 95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
100 105 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
115 120 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
130 135 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145 150 155 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
165 170 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
180 185 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
195 200 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
210 215 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
245 250 255

000411

```
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Asp Pro Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 74
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-G170N

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 74

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
```

000412

```
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat       288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc       336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag       384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc       432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg       480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct       528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc       576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg       624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg       672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt       720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg       768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca       816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct       864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga       912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg       960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc      1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc      1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac      1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365
```

000413

```
cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc      1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc      1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg aac cct tcc cag      1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Asn Pro Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                 1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 75
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 75

```
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190
```

000414

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
195 200 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
210 215 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
245 250 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
260 265 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
275 280 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Asn Pro Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 76
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-G170S

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 76
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg 48

000415

```
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc        96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc       144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag       192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg       240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat       288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc       336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag       384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc       432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg       480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct       528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc       576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg       624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg       672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt       720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg       768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca       816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct       864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga       912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300
```

000416

```
gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg tcc cct tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Ser Pro Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 77
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 77

```
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125
```

000417

```
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Ser Pro Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

000418

<210> 78
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-P171E

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 78

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30


atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc         432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg         480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct         528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc         576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg         624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg         672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt         720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240
```

000419

```
ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285
gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga gaa tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Glu Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 79
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 79

```
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
```

000420

65 70 75 80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
85 90 95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
100 105 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
115 120 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
130 135 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145 150 155 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
165 170 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
180 185 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
195 200 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
210 215 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
245 250 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
260 265 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
275 280 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly

000421

```
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Glu Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 80
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-P171H

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 80

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg      48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc      96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc     144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag     192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg     240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat     288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc     336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag     384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc     432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg     480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct     528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc     576
```

000422

```
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg       624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg       672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt       720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg       768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca       816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct       864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga       912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg       960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc      1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335
agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc      1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac      1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc      1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc      1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cac tcc cag      1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly His Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                 1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 81
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 81

```
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15
```

```
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
```

000424

```
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly His Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 82
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-P171Q

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 82

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125
```

000425

```
gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc        432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380
ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cag tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gln Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
```

000426

420

<210> 83
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 83

Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1 5 10 15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
20 25 30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
35 40 45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
50 55 60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65 70 75 80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
85 90 95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
100 105 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
115 120 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
130 135 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145 150 155 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
165 170 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
180 185 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
195 200 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
210 215 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
245 250 255

000427

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
260 265 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
275 280 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gln Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 84
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-P171T

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 84

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg        48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc        96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc       144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag       192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60
```

```
gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg        240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat        288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc        336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag        384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc        432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175


ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
```

000429

```
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc      1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc      1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga act tcc cag      1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Thr Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                 1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
<210>  85
<211>  424
<212>  PRT
<213>  Secuencia Artificial

<220>
<223>  Constructo Sintético

<400>  85

Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190
```

000430

```
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Thr Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 86
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-P171Y
<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 86
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg 48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

000431

```
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc        96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc       144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag       192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg       240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat       288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc       336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag       384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc       432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg       480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct       528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc       576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg       624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg       672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220


tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt       720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg       768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca       816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct       864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga       912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300
```

000432

```
gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga tac tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Tyr Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 87
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 87

```
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125
```

000433

```
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Tyr Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

000434

<210> 88
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-P171G

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 88

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg        48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc        96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc       144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag       192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg       240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat       288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc       336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag       384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc       432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg       480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct       528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc       576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg       624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg       672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt       720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240
```

000435

```
ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270
gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga ggt tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 89
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 89

```
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60
```

```
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365
```

```
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 90
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-P171S

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 90

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg        48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc        96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc       144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag       192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg       240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat       288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc       336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag       384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc       432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg       480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct       528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175
```

000438

```
ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205


atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300


gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga tct tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Ser Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 91
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

000439

<400> 91

```
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285
```

```
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Ser Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 92
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-P171W

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 92

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg        48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc        96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc       144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag       192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg       240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat       288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc       336
```

000441

```
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag      384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc      432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg      480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct      528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc      576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg      624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg      672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt      720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg      768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca      816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct      864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga      912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg      960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc     1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc     1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350
gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac     1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc     1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc     1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga tgg tcc cag     1248
```

000442

```
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Trp Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                    1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 93
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 93

```
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
```

000443

```
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Trp Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 94
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-P171C

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 94

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg        48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc        96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc       144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45
```

000444

```
cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag        192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg        240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat        288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc        336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag        384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc        432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140


agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
```

000445

```
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac      1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc      1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc      1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400
ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga tgc tcc cag      1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Cys Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 95
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 95

```
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175
```

```
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Cys Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 96
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-A45K G170E

000447

<220>

<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 96

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg        48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc        96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc       144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag       192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg       240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat       288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc       336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag       384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc       432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg       480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct       528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc       576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190


gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg       624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg       672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt       720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg       768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca       816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct aaa       864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Lys
```

000448

```
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gaa cct tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 97
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 97

```
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110
```

```
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Lys
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln
                405                 410                 415
```

```
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420


<210>  98
<211>  549
<212>  ADN
<213>  Secuencia Artificial

<220>
<223>  FGF21 A45K


<220>
<221>  CDS
<222>  (1)..(549)

<400>  98
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa        48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc        96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct aaa gac cag       144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Lys Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att       192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat       240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc       288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc       336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac       384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc       432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat       480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga       528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                           549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180


<210>  99
<211>  182
<212>  PRT
<213>  Secuencia Artificial

<220>
```

000451

<223> Constructo Sintético

<400> 99

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Lys Asp Gln
35 40 45

Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 100
<211> 1260
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-FGF21 6-181 G170E

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1260)

<400> 100

atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg 48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1 5 10 15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc 96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
20 25 30

000452

```
atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc        144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag        192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg        240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat        288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc        336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag        384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc        432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc tct tct cca tta tta caa ttc ggt ggt caa gtc cgg cag        768
Gly Gly Ser Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln
                245                 250                 255
cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc cac ctg gag        816
Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu
            260                 265                 270

atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag agc ccc gaa        864
Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu
        275                 280                 285

agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att caa atc ttg        912
Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu
    290                 295                 300

gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat ggg gcc ctg        960
Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu
305                 310                 315                 320

tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc cgg gag ctg       1008
Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu
                325                 330                 335
```

000453

```
ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc cac ggc ctc      1056
Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu
            340                 345                 350

ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac cct gca ccc      1104
Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro
        355                 360                 365

cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc ccc gca ccc      1152
Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro
    370                 375                 380

ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat gtg ggc tcc      1200
Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser
385                 390                 395                 400

tcg gac cct ctg agc atg gtg gaa cct tcc cag ggc cga agc ccc agc      1248
Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser
                405                 410                 415

tac gct tcc taa                                                     1260
Tyr Ala Ser
```

<210> 101
<211> 419
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 101

```
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160
```

000454

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
165 170 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
180 185 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
195 200 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
210 215 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln
245 250 255

Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu
260 265 270

Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu
275 280 285

Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu
290 295 300

Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu
305 310 315 320

Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu
325 330 335

Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu
340 345 350

Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro
355 360 365

Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro
370 375 380

Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser
385 390 395 400

Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser
405 410 415

Tyr Ala Ser

000455

<210> 102
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-A45K P171G

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 102

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg        48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc        96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc       144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45


cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag       192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg       240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat       288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc       336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag       384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc       432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg       480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct       528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc       576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg       624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg       672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt       720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg       768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca       816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270
```

000456

```
gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct aaa        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Lys
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300
gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga ggt tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            420
```

<210> 103
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 103

```
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95
```

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
100 105 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
115 120 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
130 135 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145 150 155 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
165 170 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
180 185 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
195 200 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
210 215 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
245 250 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
260 265 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Lys
275 280 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
420

<210> 104
<211> 1320
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> FGF21-(G3)-Fc; 28 AA señal de secuencia removida durante el procesamiento

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1320)

<400> 104
atg gac tcg gac gag acc ggg ttc gag cac tca gga ctg tgg gtt tct 48
Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
1 5 10 15

gtg ctg gct ggt ctt ctg ctg gga gcc tgc cag gca cac ccc atc cct 96
Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
20 25 30

gac tcc agt cct ctc ctg caa ttc ggg ggc caa gtc cgg cag cgg tac 144
Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
35 40 45

ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc cac ctg gag atc agg 192
Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
50 55 60

gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag agc ccc gaa agt ctc 240
Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
65 70 75 80

ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att caa atc ttg gga gtc 288
Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
85 90 95

aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat ggg gcc ctg tat gga 336
Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
100 105 110

tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc cgg gag ctg ctt ctt 384
Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
115 120 125

gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg 432
Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
130 135 140

cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac cct gca ccc cga gga 480
His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145 150 155 160

cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg cca ccc gca ccc ccg gag 528
Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
165 170 175

cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat gtg ggc tcc tcg gac 576
Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
180 185 190

cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga agc ccc agc tac gct 624
Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
195 200 205

000459

```
tcc ggt gga ggt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct        672
Ser Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
    210                 215                 220

gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag        720
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
225                 230                 235                 240

gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg        768
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
                245                 250                 255

gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac        816
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
            260                 265                 270

ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac        864
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
        275                 280                 285

aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac        912
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
    290                 295                 300

tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc        960
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
305                 310                 315                 320

cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga       1008
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
                325                 330                 335

gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag       1056
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
            340                 345                 350
aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac       1104
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
        355                 360                 365

atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag       1152
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
    370                 375                 380

acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tat agc       1200
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
385                 390                 395                 400

aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca       1248
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
                405                 410                 415

tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc       1296
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
            420                 425                 430

ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa tga                                      1320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
        435
```

<210> 105
<211> 439
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 105

```
Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
1               5                   10                  15

Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
```

000460

20 25 30

Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
35 40 45

Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
50 55 60

Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
65 70 75 80

Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
85 90 95

Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
100 105 110

Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
115 120 125

Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
130 135 140

His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145 150 155 160

Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
165 170 175

Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
180 185 190

Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
195 200 205

Ser Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
210 215 220

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
225 230 235 240

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
245 250 255

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
260 265 270

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
275 280 285

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
290 295 300

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
305 310 315 320

000461

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
325 330 335

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
340 345 350

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
355 360 365

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
370 375 380

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
385 390 395 400

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
405 410 415

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
420 425 430

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435

<210> 106
<211> 1245
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-G5-FGF21

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1245)

<400> 106

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg          48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc          96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc         144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag         192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc acg         240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat         288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc         336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag         384
```

000462

```
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac cag gtc        432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt ggc gga ggg ggt cat cca att cca gat tct tct        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly His Pro Ile Pro Asp Ser Ser
225                 230                 235                 240

cca tta tta caa ttc ggg ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca        768
Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr
                245                 250                 255

gat gat gcc cag cag aca gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg        816
Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly
            260                 265                 270

acg gtg ggg ggc gct gct gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg        864
Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu
        275                 280                 285

aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc        912
Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser
    290                 295                 300

agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac        960
Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His
305                 310                 315                 320

ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga       1008
Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly
                325                 330                 335

tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca       1056
Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro
            340                 345                 350

ggg aac aag tcc cca cac cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc       1104
Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg
        355                 360                 365
ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga       1152
Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly
    370                 375                 380

atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc       1200
Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser
385                 390                 395                 400

atg gtg gga cct tcc cag ggc cga agc ccc agc tac gct tcc taa           1245
Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
                405                 410
```

000463

<210> 107
<211> 414
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 107

Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1 5 10 15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
20 25 30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
35 40 45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
50 55 60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65 70 75 80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
85 90 95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
100 105 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
115 120 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
130 135 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145 150 155 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
165 170 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
180 185 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
195 200 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
210 215 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly His Pro Ile Pro Asp Ser Ser
225 230 235 240

Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr
245 250 255

Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly

260 265 270

Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu
275 280 285

Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser
290 295 300

Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His
305 310 315 320

Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly
325 330 335

Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro
340 345 350

Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg
355 360 365

Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly
370 375 380

Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser
385 390 395 400

Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
405 410

<210> 108
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> FGF21 L99R

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 108
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa 48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc 96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag 144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att 192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat 240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc 288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

000405

```
cgg gag ctg cgt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc        336
Arg Glu Leu Arg Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac        384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc        432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat        480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga        528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                           549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 109
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 109

```
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

Arg Glu Leu Arg Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160
```

000466

```
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 110
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> FGF21 L99D

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 110

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa        48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc        96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag       144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att       192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat       240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc       288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg gac ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc       336
Arg Glu Leu Asp Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac       384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc       432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat       480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga       528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                           549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

000467

<210> 111
<211> 182
<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 111

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Asp Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 112
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> FGF21 A111T

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 112
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa 48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc 96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

000468

```
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag        144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att        192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat        240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc        288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa acc        336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Thr
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac        384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc        432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat        480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga        528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                           549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 113
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 113

```
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95
```

000469

```
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Thr
            100                 105                 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 114
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> FGF21 A129D

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 114

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa        48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc        96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag       144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att       192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat       240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc       288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc       336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac       384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gac ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc       432
Pro Asp Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
```

000470

130 135 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat 480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga 528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

agc ccc agc tac gct tcc taa 549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 115
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 115

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Asp Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 116
<211> 549

000471

<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> FGF21 A129Q

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 116
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa 48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc 96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag 144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att 192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat 240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc 288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc 336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac 384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

cct cag ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc 432
Pro Gln Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat 480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga 528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

agc ccc agc tac gct tcc taa 549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 117
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 117

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

000472

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Gln Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 118
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> FGF21 A134K

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 118
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa 48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc 96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag 144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att 192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

000473

```
caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat      240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc      288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc      336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac      384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca aaa cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc      432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Lys Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat      480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga      528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                         549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 119
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 119

```
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125
```

000474

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Lys Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 120
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> FGF21 A134Y

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 120
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa 48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc 96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag 144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att 192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat 240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc 288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc 336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac 384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

cct gca ccc cga gga cca tat cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc 432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Tyr Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat 480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga 528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

000475

549

agc ccc agc tac gct tcc taa
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 121
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 121

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Tyr Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 122
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> FGF21 A134E

<220>
<221> CDS

000476

<222> (1)..(549)

<400> 122
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa 48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc 96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag 144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att 192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat 240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc 288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc 336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac 384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

cct gca ccc cga gga cca gaa cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc 432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Glu Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat 480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga 528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

agc ccc agc tac gct tcc taa 549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 123
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 123

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

000477

Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Glu Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 124
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> FGF21 A129K

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 124
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa 48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc 96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag 144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att 192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat 240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc 288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

000478

```
cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc        336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac        384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct aaa ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc        432
Pro Lys Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat        480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga        528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                           549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 125
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 125

```
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

Pro Lys Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160
```

000479

```
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 126
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> FGF21 P78C

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 126

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa      48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc      96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag     144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att     192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg tgc gat     240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Cys Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc     288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc     336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac     384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc     432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat     480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga     528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                        549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 127
<211> 182
<212> PRT

000480

<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 127

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Cys Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 128
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> FGF21 P78R

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 128
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa 48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc 96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

000481

```
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag        144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att        192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cgt gat        240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Arg Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc        288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc        336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110


cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac        384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc        432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat        480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga        528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                           549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180


<210>  129
<211>  182
<212>  PRT
<213>  Secuencia Artificial

<220>
<223>  Constructo Sintético

<400>  129

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Arg Asp
65                  70                  75                  80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
```

85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 130
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> FGF21 L86T

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 130
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa 48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc 96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag 144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att 192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat 240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

ggg gcc ctg tat gga tcg acc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc 288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Thr His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc 336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac 384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc 432

000483

```
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat        480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga        528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                           549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 131
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 131

```
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Thr His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

000484

<210> 132

<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> FGF21 L86C

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 132
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa 48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc 96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag 144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att 192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat 240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

ggg gcc ctg tat gga tcg tgc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc 288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Cys His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc 336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac 384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc 432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat 480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga 528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

agc ccc agc tac gct tcc taa 549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 133
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 133

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

000485

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Cys His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 134
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> FGF21 L98C

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 134
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa 48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc 96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag 144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att 192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

```
caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat        240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc        288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag tgc ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc        336
Arg Glu Cys Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac        384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc        432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat        480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga        528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                          549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 135
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 135

```
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

Arg Glu Cys Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125
```

000487

```
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 136
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> FGF21 L98R

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 136

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa        48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc        96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag       144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att       192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat       240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc       288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag cgt ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc       336
Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac       384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc       432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat       480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga       528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
```

000488

165 170 175

agc ccc agc tac gct tcc taa 549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 137
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 137

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 138
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> FGF21 L52T

<220>

000489

<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 138
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa 48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc 96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag 144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

agc ccc gaa agt acc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att 192
Ser Pro Glu Ser Thr Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
50 55 60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat 240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65 70 75 80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc 288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
85 90 95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc 336
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
100 105 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac 384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
115 120 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc 432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
130 135 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat 480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145 150 155 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga 528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
165 170 175

agc ccc agc tac gct tcc taa 549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 139
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 139

Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
20 25 30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
35 40 45

```
Ser Pro Glu Ser Thr Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 140
<211> 549
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> FGF21 L58E

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(549)

<400> 140

```
atg cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg ggc caa      48
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc      96
Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag     144
His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc gaa aag ccg gga gtt att     192
Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Glu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat     240
Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc     288
Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc     336
```

000491

```
Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac        384
His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg ccc        432
Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat        480
Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga        528
Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
                165                 170                 175

agc ccc agc tac gct tcc taa                                           549
Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 141
<211> 182
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 141

```
Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1               5                   10                  15

Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
            20                  25                  30

His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
        35                  40                  45

Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Glu Lys Pro Gly Val Ile
    50                  55                  60

Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
65                  70                  75                  80

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
                85                  90                  95

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
            100                 105                 110

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
        115                 120                 125

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
    130                 135                 140

Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
145                 150                 155                 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
```

000492

```
                165                 170                 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
            180
```

<210> 142
<211> 1278
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-L98R P171G 182P

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1278)

<400> 142

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca ccc tgt cca gct ccg gaa ctc ctg        48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc        96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc       144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag       192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg       240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat       288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc       336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag       384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc       432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg       480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct       528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc       576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg       624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg       672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
```

000493

```
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240
ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag cgt ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga ggt tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc ccg taa                              1278
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Pro
            420                 425
```

<210> 143
<211> 425
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 143

```
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45
```

000494

```
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350
```

000495

```
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Pro
            420                 425
```

<210> 144
<211> 1278
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-L98R P171G 182G

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1278)

<400> 144

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg        48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc        96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc       144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag       192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg       240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat       288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc       336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag       384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc       432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg       480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160
```

000496

```
gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285
gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag cgt ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga ggt tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc ggc taa                              1278
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Gly
            420                 425
```

<210> 145
<211> 425
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>

000497

<223> Constructo Sintético

<400> 145

Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1 5 10 15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
20 25 30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
35 40 45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
50 55 60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65 70 75 80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
85 90 95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
100 105 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
115 120 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
130 135 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145 150 155 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
165 170 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
180 185 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
195 200 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
210 215 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
245 250 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
260 265 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
275 280 285

000498

```
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Gly
            420                 425
```

<210> 146
<211> 1281
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-L98R P171G 182G 183G

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1281)

<400> 146

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg        48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc        96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc       144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag       192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg       240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat       288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95
```

000499

```
ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc      336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag      384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc      432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg      480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct      528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc      576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg      624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg      672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt      720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg      768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca      816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct      864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga      912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg      960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc     1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335
agc ttc cgg gag cgt ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc     1056
Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac     1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc     1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc     1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400
```

000500

```
ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga ggt tcc cag      1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac gct tcc ggt ggc taa                      1281
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Gly Gly
            420                 425
```

<210> 147
<211> 426
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 147

```
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220
```

000501

```
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Gly Gly
            420                 425
```

<210> 148
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-L98R P171G Y179S

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 148

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg        48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc        96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc       144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
```

000502

```
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag        192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg        240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat        288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc        336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag        384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125


gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc        432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335
```

000503

```
agc ttc cgg gag cgt ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc      1056
Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac      1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc      1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380
ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc      1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga ggt tcc cag      1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tcc gct tcc taa                                 1275
Gly Arg Ser Pro Ser Ser Ala Ser
            420
```

<210> 149
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 149

```
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
```

000504

165 170 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
180 185 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
195 200 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
210 215 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
245 250 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
260 265 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
275 280 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
290 295 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305 310 315 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
325 330 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
340 345 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Ser Ala Ser
420

<210> 150
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-L98R P171G Y179F

000505

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 150

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg        48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc        96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc       144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag       192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg       240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat       288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc       336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag       384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc       432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg       480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct       528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175


ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc       576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg       624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg       672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt       720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg       768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca       816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct       864
```

000506

```
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga      912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg      960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc     1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag cgt ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc     1056
Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac     1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc     1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc     1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga ggt tcc cag     1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc ttc gct tcc taa                                1275
Gly Arg Ser Pro Ser Phe Ala Ser
            420
```

<210> 151
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 151

```
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110
```

000507

```
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205


Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
```

000509

405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Phe Ala Ser
420

<210> 152
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-L98R P171G Y179A
<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 152

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg        48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc        96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc       144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag       192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg       240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat       288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc       336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag       384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc       432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg       480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct       528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc       576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg       624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg       672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220
```

000509

```
tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag cgt ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga ggt tcc cag       1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc gct gct tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Ala Ala Ser
            420
```

<210> 153
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 153

```
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45
```

000510

```
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350
```

0005

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
355 360 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
370 375 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385 390 395 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
405 410 415

Gly Arg Ser Pro Ser Ala Ala Ser
420

<210> 154
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-L98R P171G A180S

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 154
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg 48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1 5 10 15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc 96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
20 25 30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc 144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
35 40 45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag 192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
50 55 60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg 240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65 70 75 80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat 288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
85 90 95

ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc 336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
100 105 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag 384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
115 120 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc 432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
130 135 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg 480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

000512

```
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct      528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc      576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg      624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg      672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt      720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg      768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca      816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270
gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct      864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga      912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg      960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc     1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag cgt ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc     1056
Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac     1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc     1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc     1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga ggt tcc cag     1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac tcc tcc taa                                1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ser Ser
            420
```

<210> 155
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

000513

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 155

```
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                  10                  15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285
```

```
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ser Ser
            420
```

<210> 156
<211> 1275
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Fc-L15-L98R P171G A180G

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1275)

<400> 156

```
atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg        48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc        96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

atg atc tcc cgt acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc       144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag       192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgt gag gag cag tac aac agc acg       240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat       288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95
```

000514

```
ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc        336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag        384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgt gat gag ctg acc aag aac cag gtc        432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg        480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct        528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc        576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

gtg gac aag agc cgt tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg        624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg        672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220

tct ccg ggt aaa ggt gga ggt ggt ggt tct ggt ggt ggt agc ggt ggt        720
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggt gga tcc cat cca att cca gat tct tct cca tta tta caa ttc ggg        768
Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca        816
Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct        864
Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga        912
Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg        960
Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320
cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc       1008
Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

agc ttc cgg gag cgt ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc       1056
Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac       1104
Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc       1152
Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc       1200
Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400
```

000515

```
ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga ggt tcc cag      1248
Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

ggc cga agc ccc agc tac ggt tcc taa                                  1275
Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Gly Ser
            420
```

<210> 157
<211> 424
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 157

```
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1               5                   10                  15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            20                  25                  30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        35                  40                  45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    50                  55                  60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                85                  90                  95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        115                 120                 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
    130                 135                 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145                 150                 155                 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                165                 170                 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
            180                 185                 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        195                 200                 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    210                 215                 220
```

000516

```
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
                245                 250                 255

Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
            260                 265                 270

Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
    290                 295                 300

Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
305                 310                 315                 320

Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
                325                 330                 335

Ser Phe Arg Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
            340                 345                 350

Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His
        355                 360                 365

Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
    370                 375                 380

Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
385                 390                 395                 400

Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln
                405                 410                 415

Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Gly Ser
            420
```

<210> 158
<211> 1287
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> MKEDD-FGF21-(L15)-Fc

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1287)

<400> 158

```
atg aaa gaa gat gat cac cca att cca gat tct tct cca tta tta caa        48
Met Lys Glu Asp Asp His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln
1               5                   10                  15

ttc ggg ggc caa gtc cgg cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag        96
Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln
            20                  25                  30

cag aca gaa gcc cac ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc       144
```

000517

```
Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly
        35                  40                  45

gct gct gac cag agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag      192
Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys
    50                  55                  60

ccg gga gtt att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc      240
Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys
65                  70                  75                  80

cag cgg cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag      288
Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu
                85                  90                  95

gcc tgc agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac      336
Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
            100                 105                 110


cag tcc gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag tcc      384
Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser
        115                 120                 125

cca cac cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg cca cta      432
Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu
    130                 135                 140

cca ggc ctg cca ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc ctg gcc ccc      480
Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro
145                 150                 155                 160

cag ccc ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc atg gtg gga cct      528
Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro
                165                 170                 175

tcc cag ggc cga agc ccc agc tac gct tcc ggt gga ggt ggt ggt tct      576
Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser
            180                 185                 190

ggt ggt ggt agc ggt ggt ggt gga tcc gac aaa act cac aca tgc cca      624
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
        195                 200                 205

ccg tgc cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc      672
Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
    210                 215                 220

ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgt acc cct gag gtc      720
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
225                 230                 235                 240

aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc      768
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
                245                 250                 255

aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg      816
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
            260                 265                 270

cgt gag gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc      864
Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
        275                 280                 285

gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc      912
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
    290                 295                 300

tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc      960
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
305                 310                 315                 320

aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg     1008
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
                325                 330                 335
```

000518

```
gat gag ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc      1056
Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
            340                 345                 350

ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg      1104
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
        355                 360                 365
gag aac aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc      1152
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
    370                 375                 380

ttc ttc ctc tat agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag      1200
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
385                 390                 395                 400

ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac      1248
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
                405                 410                 415

tac acg cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa taa                 1287
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
            420                 425
```

<210> 159
<211> 428
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 159

```
Met Lys Glu Asp Asp His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln
1               5                   10                  15

Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln
            20                  25                  30

Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly
        35                  40                  45

Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys
    50                  55                  60

Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys
65                  70                  75                  80

Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu
                85                  90                  95

Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
            100                 105                 110

Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser
        115                 120                 125

Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu
    130                 135                 140

Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro
145                 150                 155                 160
```

000520

Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro
165 170 175

Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser
180 185 190

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
195 200 205

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
210 215 220

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
225 230 235 240

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
245 250 255

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
260 265 270

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
275 280 285

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
290 295 300

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
305 310 315 320

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
325 330 335

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
340 345 350

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
355 360 365

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
370 375 380

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
385 390 395 400

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
405 410 415

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
420 425

<210> 160
<211> 630
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

000521

<220>
<223> FGF21 Y179N S181T, 28AA señal de secuencia removida durante el procesamiento

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(630)

<400> 160
atg gac tcg gac gag acc ggg ttc gag cac tca gga ctg tgg gtt tct 48
Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
1 5 10 15

gtg ctg gct ggt ctt ctg ctg gga gcc tgc cag gca cac ccc atc cct 96
Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
20 25 30

gac tcc agt cct ctc ctg caa ttc ggg ggc caa gtc cgg cag cgg tac 144
Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
35 40 45

ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc cac ctg gag atc agg 192
Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
50 55 60

gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag agc ccc gaa agt ctc 240
Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
65 70 75 80

ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att caa atc ttg gga gtc 288
Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
85 90 95

aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat ggg gcc ctg tat gga 336
Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
100 105 110

tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc cgg gag ctg ctt ctt 384
Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
115 120 125

gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg 432
Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
130 135 140

cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac cct gca ccc cga gga 480
His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145 150 155 160

cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg cca ccc gca ccc ccg gag 528
Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
165 170 175

cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat gtg ggc tcc tcg gac 576
Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
180 185 190

cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga agc ccc agc aac gct 624
Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Asn Ala
195 200 205

acc tga 630
Thr

<210> 161
<211> 209
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 161

Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
1 5 10 15

000522

```
Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
            20                  25                  30

Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
        35                  40                  45

Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
    50                  55                  60

Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
65                  70                  75                  80

Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
                85                  90                  95

Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
            100                 105                 110

Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
        115                 120                 125

Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
    130                 135                 140

His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145                 150                 155                 160

Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
                165                 170                 175

Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
            180                 185                 190

Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Asn Ala
        195                 200                 205

Thr
```

<210> 162
<211> 630
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> FGF21 Y179N, 28 AA señal de secuencia removida durante el procesamiento

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(630)

<400> 162

```
atg gac tcg gac gag acc ggg ttc gag cac tca gga ctg tgg gtt tct        48
Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
1               5                   10                  15

gtg ctg gct ggt ctt ctg ctg gga gcc tgc cag gca cac ccc atc cct        96
Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
            20                  25                  30
```

000523

```
gac tcc agt cct ctc ctg caa ttc ggg ggc caa gtc cgg cag cgg tac        144
Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
        35                  40                  45

ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc cac ctg gag atc agg        192
Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
    50                  55                  60

gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag agc ccc gaa agt ctc        240
Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
65                  70                  75                  80

ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att caa atc ttg gga gtc        288
Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
                85                  90                  95

aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat ggg gcc ctg tat gga        336
Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
            100                 105                 110


tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc cgg gag ctg ctt ctt        384
Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
        115                 120                 125

gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg        432
Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
    130                 135                 140

cac ctg cca ggg aac aag tcc cca cac cgg gac cct gca ccc cga gga        480
His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145                 150                 155                 160

cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg cca ccc gca ccc ccg gag        528
Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
                165                 170                 175

cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat gtg ggc tcc tcg gac        576
Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
            180                 185                 190

cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga agc ccc agc aac gct        624
Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Asn Ala
        195                 200                 205

tcc tga                                                               630
Ser
```

<210> 163
<211> 209
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 163

```
Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
1               5                   10                  15

Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
            20                  25                  30

Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
        35                  40                  45

Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
    50                  55                  60
```

000524

Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
65 70 75 80

Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
85 90 95

Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
100 105 110

Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
115 120 125

Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
130 135 140

His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145 150 155 160

Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
165 170 175

Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
180 185 190

Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Asn Ala
195 200 205

Ser

<210> 164
<211> 630
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> FGF21 P124S, 28 AA señal de secuencia removida durante el procesamiento

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(630)

<400> 164
atg gac tcg gac gag acc ggg ttc gag cac tca gga ctg tgg gtt tct 48
Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
1 5 10 15

gtg ctg gct ggt ctt ctg ctg gga gcc tgc cag gca cac ccc atc cct 96
Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
20 25 30

gac tcc agt cct ctc ctg caa ttc ggg ggc caa gtc cgg cag cgg tac 144
Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
35 40 45

ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc cac ctg gag atc agg 192
Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
50 55 60

000525

gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag agc ccc gaa agt ctc 240
Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu

```
65                  70                  75                  80

ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt att caa atc ttg gga gtc        288
Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
                85                  90                  95

aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg cca gat ggg gcc ctg tat gga        336
Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
            100                 105                 110

tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc tgc agc ttc cgg gag ctg ctt ctt        384
Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
        115                 120                 125

gag gac gga tac aat gtt tac cag tcc gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg        432
Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
    130                 135                 140

cac ctg cca ggg aac aag tcc tca cac cgg gac cct gca ccc cga gga        480
His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Ser His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145                 150                 155                 160

cca gct cgc ttc ctg cca cta cca ggc ctg cca ccc gca ccc ccg gag        528
Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
                165                 170                 175

cca ccc gga atc ctg gcc ccc cag ccc ccc gat gtg ggc tcc tcg gac        576
Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
            180                 185                 190

cct ctg agc atg gtg gga cct tcc cag ggc cga agc ccc agc tac gct        624
Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
        195                 200                 205

tcc tga                                                               630
Ser
```

<210> 165
<211> 209
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 165

```
Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
1               5                   10                  15

Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
            20                  25                  30

Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
        35                  40                  45

Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
    50                  55                  60

Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
65                  70                  75                  80

Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
                85                  90                  95

Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
            100                 105                 110
```

000526

```
Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
        115                 120                 125

Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
    130                 135                 140

His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Ser His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145                 150                 155                 160

Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
                165                 170                 175

Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
            180                 185                 190

Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
        195                 200                 205

Ser
```

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
11 November 2010 (11.11.2010)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2010/129503 A1

(51) International Patent Classification:
A61K 38/18 (2006.01) *C07K 14/50* (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2010/033478

(22) International Filing Date:
4 May 2010 (04.05.2010)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/175,736 5 May 2009 (05.05.2009) US
61/285,118 9 December 2009 (09.12.2009) US

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: **AMGEN INC.** [US/US]; One Amgen Center Drive, Thousand Oaks, California 91320-1799 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: **BELOUSKI, Edward John** [US/US]; 4541 La Tuna Court, Camarillo, California 93012 (US). **ELLISON, Murielle Marie** [US/US]; 645 Camino Manzanas, Thousand Oaks, California 91360 (US). **HAMBURGER, Agnes Eva** [US/US]; 3885 Calle Alta Vista, Thousand Oaks, California 91320 (US). **HECHT, Randy Ira** [US/US]; 2569 Piccadilly Circle, Thousand Oaks, California 91362 (US). **LI, Yue-Sheng** [US/US]; 3025 Shadow Hill Circle, Thousand Oaks, California 91360 (US). **MICHAELS, Mark Leo** [US/US]; 5007 Texhoma Avenue, Encino, California 91316 (US). **SUN, Jeonghoon** [KR/US]; 4340 Camino De La Rosa, Thousand Oaks, California 91320 (US). **XU, Jing** [CN/US]; 1677 Glider Court, Thousand Oaks, California 91320 (US).

(74) Agent: **LAMERDIN, John A.**; Patent Operations, M/S 28-2-C, Amgen Inc., One Amgen Center Drive, Thousand Oaks, California 91320-1799 (US).

(81) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of national protection available)*: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

— *as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))*

Published:

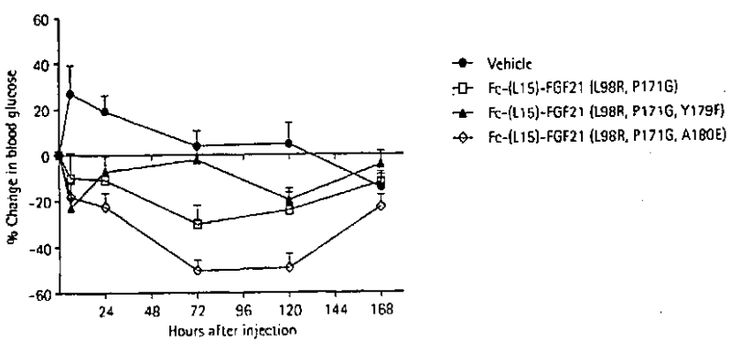
— *with international search report (Art. 21(3))*

— *before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments (Rule 48.2(h))*

[Continued on next page]

(54) Title: FGF21 MUTANTS AND USES THEREOF

FIG. 36



000528

(57) Abstract: The invention provides nucleic acid molecules encoding FGF21 mutant polypeptides, FGF21 mutant polypeptides, pharmaceutical compositions comprising FGF21 mutant polypeptides, and methods for treating metabolic disorders using such nucleic acids, polypeptides, or pharmaceutical compositions.

WO 2010/129503 A1

— *with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))*

000529

VIII-2-1	**Declaration: Entitlement to apply for and be granted a patent** Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate: Name (LAST, First)	In relation to this international application AMGEN INC. is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:
VIII-2-1(iv)		an assignment from BELOUSKI, John Edward to AMGEN INC., dated 16 March 2010 (16.03.2010)
VIII-2-1(iv)		an assignment from ELLISON, Murielle Marie to AMGEN INC., dated 16 March 2010 (16.03.2010)
VIII-2-1(iv)		an assignment from HAMBURGER, Agnes Eva to AMGEN INC., dated 16 March 2010 (16.03.2010)
VIII-2-1(iv)		an assignment from HECHT, Randy Ira to AMGEN INC., dated 16 March 2010 (16.03.2010)
VIII-2-1(iv)		an assignment from LI, Yue-Sheng to AMGEN INC., dated 16 March 2010 (16.03.2010)
VIII-2-1(iv)		an assignment from MICHAELS, Mark Leo to AMGEN INC., dated 16 March 2010 (16.03.2010)
VIII-2-1(iv)		an assignment from SUN, Jeonghoon to AMGEN INC., dated 16 March 2010 (16.03.2010)
VIII-2-1(iv)		an assignment from XU, Jing to AMGEN INC., dated 16 March 2010 (16.03.2010)

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 11-167163- -00000-0000

Fecha: 2011-12-05 15:34:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 530

PATENTE DE INVENCIÓN ☐ MODELO

- ☐ Indicación que se solicita una patente.
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Descripción de la invención
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)

Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCIÓN PCT ☑ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ **Art.33 Decisión 486/00, Circular Única**

- ☑ Indicación que se solicita una PCT
- ☑ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
- ☑ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☑ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☑ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ **(Art. 119 Decisión 486/00)**

- ☐ Indicación que se solicita Diseño industrial
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ **(Art. 92 Decisión 486/00)**

- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica de un esquema de trazado
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐