SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-300927- -00000-0000

Fecha: 2013-12-27 11:31:13 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 219

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCIÓN

21. **EXPEDIENTE No.** _____

54. **TÍTULO** COMPOSICIONES, USOS Y MÉTODOS PARA TRATAMIENTO DE TRASTORNOS Y ENFERMEDADES METABÓLICAS

51. **CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL** _____

71. **SOLICITANTE** **NGM BIOPHARMACEUTICALS, INC.**

DOMICILIO Estado de california E.U.A.

74. **APODERADO** GERMAN CASTILLO GRAU

22. **BOGOTÁ, D.C.,** 2013

(FORMA P-10)

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-300927- -00000-0000

Fecha: 2013-12-27 11:31:13 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 219

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL - PCT

1	TIPO SE SOLICITUD	[X] Patente de invención	[ ] Patente de Modelo de Utilidad
		[X] Capítulo I	[ ] Capítulo II

2 DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)

Solicitud Internacional No.	PCT/ US2012/045087	Fecha	Junio 29, 2012
Publicación Internacional No.	WO 2013/006486 A9	Fecha	Enero 10, 2013

3 TÍTULO DE LA INVENCIÓN (200 caracteres o espacios máximos)

COMPOSICIONES, USOS Y MÉTODOS PARA TRATAMIENTO DE TRASTORNOS Y ENFERMEDADES METABÓLICAS

4 CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (CIP)

C07K 19/00; C12N 15/62; A61 K 38/18; A61P 3/10

5 SOLICITANTE (S) [ ] Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria

	IDENTIFICACIÓN	TIPO
NGM BIOPHARMACEUTICALS, INC.		

6 DATOS DEL SOLICITANTE

DIRECCIÓN	630 Gateway Boulevard	No. TELÉFONO	
CIUDAD	South San Francisco, Estado de California	CORREO ELECTRÓNICO	
PAIS	E.U.A.	NACIONALIDAD O LUGAR DE CONSTITUCIÓN	E.U.A.

7 INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria

	APELLIDOS	NOMBRES	NACIONALIDAD
1	Ling	Lei	E.U.A.
2	Lindhout	Darrin A.	E.U.A.
3			
4			
5			

DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO:

8 DATOS INVENTOR (ES)

	PAÍS RESIDENCIA	DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
1	E.U.A.	California	Foster City	411 Nantucket Street
2	E.U.A.	California	Mountain View	1533 Miramonte Avenue
3				
4				
5				

OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)

[ ] Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación

9 [ ] REPRESENTANTE LEGAL [X] APODERADO

	IDENTIFICACION
GERMAN CASTILLO GRAU	C.C. 17.017.671 de Bogotá TP 2.978 del C.S.J.

DIRECCIÓN	Carrera 13 No. 37-43 Piso 12	No. TELÉFONO	285 7460
CIUDAD	Bogotá, D.C.	CORREO ELECTRÓNICO	info@castillograu.com
PAÍS	Colombia	No. RADICACIÓN O PORTOCOLO DE PODER GENERAL	

10 DECLARACIONES DE PRIORIDAD [X] SI [ ] NO

	(33)PAIS DE ORIGEN	CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO	(32) FECHA (AAAA/MM/DD)
1	E.U.A.		61/504,128	Julio 1, 2011
2	E.U.A.		61/515,126	Agosto 4, 2011
3				

11 DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS

Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen,

[ ] SI [X] NO

Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente,

12 DECLARACION SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES

Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicional de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.

[ ] SI [X] NO

Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado o número de registro expedido por la Autoridad competente.

13 REDUCCIÓN DE TASAS

Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de la patente.

[ ] SI [X] NO

Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.

Micro, pequeñas y medianas empresas [ ]
Universidades públicas o privadas [ ]
Entidades sin ánimo de lucro [ ]

Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos

14 AUTORIZACION DE NOTIFICACION EN LINEA [ ] SI [X] NO

Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.

15 COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO No. 13-135225 Fecha. DIC 27/13

16 FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL
Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)

GERMAN CASTILLO GRAU

17 ANEXOS

Documentación Técnica
Solicitud Internacional en Castellano

1	[X]	Descripción	No. De folios:
2	[X]	Reivindicaciones	No. Reivindicaciones:
3	[X]	Dibujos y/o figuras	No. Folios:
4	[X]	Resumen	
5	[ ]	Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso	
6	[ ]	Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso	
7	[X]	Arte final 12 x 12	
8	[ ]	Anexo formato digital	

Documentación Jurídica

9	[ ]	Poderes, si fuera el caso.
10	[ ]	Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante
11	[ ]	Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado número de registro, si fuera al caso
12	[ ]	Copia de la licencia o autorización de conocimientos Tradicionales, o certificado o número de registro, si fuera el caso
13	[ ]	**Reducción de tasas**

Micro, pequeñas o medianas empresas
[ ] Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea
[ ] Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004

Universidades públicas o privadas
[ ] Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación

Entidades sin animo de lucro
[ ] Copia de regido vigente en Cámara de comercio
[ ] Hoja de información complementaria
[ ] Otros, especificar

16	[X]	Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
17	[ ]	Comprobante de pago por reivindicación de prioridad
18	[ ]	Comprobante de pago de la tasa de concepto de excedente de palabras en la publicación
19	[ ]	Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN

■ Patente de Invención ☐ Patente modelo de utilidad [X] PCT

(21) No. De solicitud	(51) int. Cl:
(22) Fecha de solicitud	(71) Solicitante (s) **NGM BIOPHARMACEUTICALS, INC.**
(30) Prioridad **SI** (31) No. Prioridad 61/504,128; 61/515,126 (32) Fecha: Julio 1, 2011; Agosto 4, 2011 (33) País: E.U.A.	(72) Interventor (es) Ling Lei; Lindhout Darrin A. (74) Apoderado (s) GERMAN CASTILLO GRAU

(54) Título

COMPOSICIONES, USOS Y MÉTODOS PARA TRATAMIENTO DE TRASTORNOS Y ENFERMEDADES METABÓLICAS

Las casillas identificadas con 85, 86 y 87 sólo aplican para PCT

(85) Fecha límite inicio Fase Nacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud ***Fecha Junio 29, 2012*** ***No. de solicitud PCT/ US2012/045087***	(87) Publicación internacional **Fecha Enero 10, 2013** **No. Publicación WO 2013/006486 A9**

Resumen reivindicación (es):

La invención se refiere a variantes y fusiones del factor 19 de crecimiento de fibroblasto (FGF19), variantes y fusiones del factor 21 de crecimiento de fibroblasto (FGF21), fusiones del factor 19 de crecimiento de fibroblasto (FGF19) y/o el factor 21 de crecimiento de fibroblasto (FGF21) y variantes o fusiones de proteínas del factor 19 de crecimiento de fibroblasto (FGF19) y/o el factor 21 de crecimiento de fibroblasto (FGF21), y las secuencias de péptidos (y peptidomiméticos), que tienen una o más actividades, tales como la actividad de reducción de la glucosa, y métodos para y usos en el tratamiento de hiperglicemia y otros trastornos.

COMPOSICIONES, USOS Y MÉTODOS PARA TRATAMIENTO DE TRASTORNOS Y ENFERMEDADES METABÓLICAS

Solicitudes Relacionadas

Esta solicitud reclama el beneficio de la prioridad de la solicitud no. de serie 61/504,128, presentada el 1 de julio de 2011, y la solicitud no. de serie 61/515,126, presentada el 4 de agosto de 2011, ambas solicitudes de las cuales se incorporan expresamente en la presente para referencia en su totalidad.

Campo de la Invención

La invención se refiere a variantes de proteínas del factor 19 de crecimiento de fibroblasto (FGF19) y secuencias de péptidos (y peptidomiméticos) y fusiones de proteínas de factor 19 de crecimiento de fibroblasto (FGF19) y/o del factor 21 de crecimiento de fibroblasto (FGF21) y secuencias de péptidos (y peptidomiméticos), y variantes de fusiones de proteínas del factor 19 de crecimiento de fibroblasto (FGF19) y/o del factor 21 de crecimiento de fibroblasto (FGF21) y secuencias de péptidos (y peptidomiméticos) que tienen actividad de disminución de glucosa, y métodos para y usos en el tratamiento de hiperglicemia y otros trastornos.

Introducción

La diabetes mellitus es una enfermedad metabólica debilitante provocada por la ausencia de producción de insulina (tipo 1) o resistencia a la insulina o producción insuficiente de insulina (tipo 2) de las células β. Las células β son células endócrinas especializadas que fabrican y almacenan insulina para la liberación después de un alimento. La insulina es una hormona que facilita la transferencia de glucosa de la sangre hacia los tejidos en donde se necesite. Los pacientes con diabetes deben monitorear frecuentemente los niveles de glucosa en sangre y muchos requieren múltiples inyecciones de insulina diarias para sobrevivir. Sin embargo, tales pacientes raramente alcanzan los niveles de glucosa ideales por la inyección de insulina (Turner, R.C. *et al.* *JAMA* 281:2005(1999)). Además, la elevación prolongada de los niveles de insulina pueden resultar en efectos secundarios perjudiciales tales como choque hipoglicémico y desensibilización de la respuesta del cuerpo a insulina. Consecuentemente los pacientes diabéticos todavía desarrollan complicaciones a largo plazo, tales como enfermedades cardiovasculares, enfermedad renal, ceguera, daño a los nervios, y trastornos de cicatrización de heridas (UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group, *Lancet* 352:837 (1998)).

Se ha propuesto la cirugía bariátrica como un

tratamiento potencial para la diabetes. Se ha postulado que los cambios en la secreción de la hormona del intestino después de la cirugía son responsables de la resolución de los padecimientos diabéticos. El mecanismo molecular subyacente aún tiene que elucidarse, aunque el péptido 1 similar a glucagón (GLP-1) se ha especulado como un candidato posible (Rubino, F. Diabetes Care 32 Suppl 2:S368 (2009)). FGF19 se expresa altamente en el intestino delgado distal y la sobreexpresión transgénica de FGF19 mejora la homeostasis de la glucosa (Tomlinson, E. Endocrinology 143(5):1741-7(2002)). Los niveles de suero de FGF19 en humanos se elevan después de la cirugía de bypass gástrico. La expresión y secreción aumentadas de FGF19 pueden explicar al menos parcialmente la remisión de la diabetes experimentada después de la cirugía.

Por consiguiente, existe la necesidad de tratamientos alternativos de los padecimientos hiperglicémicos tales como diabetes, prediabetes, resistencia a la insulina, hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa o síndrome metabólico, y otros trastornos y enfermedades asociados con los niveles de glucosa elevados, en humanos. La invención satisface esta necesidad y proporciona ventajas relacionadas.

Compendio

La invención se basa, en parte, en las variantes de las secuencias de péptidos del factor 19 de crecimiento de fibroblasto (FGF19), fusiones de las secuencias de péptidos del factor 19 de crecimiento de fibroblasto (FGF19) y/o el factor 21 de crecimiento de fibroblasto (FGF21) y variantes de las fusiones (quimeras) de las secuencias de péptidos del factor 19 de crecimiento de fibroblasto (FGF19) y/o el factor 21 de crecimiento de fibroblasto (FGF21) que tienen una o más actividades, tales como la actividad de disminución de glucosa. Tales variantes y fusiones (quimeras) de las secuencias de péptido de FGF19 y/o FGF21 incluyen secuencias que no incrementan o inducen la formación de carcinoma hepatocelular (HCC) o tumorigénesis HCC. Tales variantes y fusiones (quimeras) de las secuencias de péptidos FGF19 y/o FGF21 también incluyen secuencias que no inducen una elevación o incremento sustancial en el perfil de lípidos.

En una modalidad, una secuencia de péptidos quiméricos incluye o consiste de: una región N-terminal que tiene por lo menos siete residuos de aminoácidos, la región N-terminal que tiene una primera posición de aminoácidos y una última posición de aminoácidos, en donde la región N-terminal tiene una secuencia de DSSPL o DASPH; y una región C-terminal que tiene una porción de FGF19, en donde la región C-terminal tiene una primera posición de aminoácidos y una

última posición de aminoácidos, en donde la región C-terminal incluye residuos de aminoácidos 16-29 de FGF19 (WGDPIRLRHLYTSG), y en donde el residuo W corresponde a la primera posición de aminoácidos de la región C-terminal.

En otra modalidad, una secuencia de péptidos quiméricos incluye o consiste de: una región N-terminal que tiene una porción de FGF21, en donde la región N-terminal tiene una primera posición de aminoácidos y una última posición de aminoácidos, en donde la región N-terminal tiene una secuencia de GQV, y en donde el residuo V corresponde a la última posición de aminoácidos de la región N-terminal; y una región C-terminal incluye una porción de FGF19, la región C-terminal que tiene una primera posición de aminoácidos y una última posición de aminoácidos, en donde la región C-terminal incluye residuos de aminoácidos 21-29 de FGF19 (RLRHLYTSG), y en donde el residuo R corresponde a la primera posición de la región C-terminal.

En una modalidad adicional, una secuencia de péptidos quiméricos incluye o consiste de cualquiera de: una región N-terminal que comprende una porción de la SEQ ID NO: 100 [FGF21], la región N-terminal que tiene una primera posición de aminoácidos y una última posición de aminoácidos, en donde la región N-terminal comprende por lo menos 5 (o más) aminoácidos contiguos de la SEQ ID NO: 100 [FGF21] que incluye los residuos de aminoácidos GQV, y en donde el

residuo V corresponde a la última posición de aminoácidos de la región N-terminal; y una región C-terminal que comprende una porción de la SEQ ID NO: 99 [FGF19], la región C-terminal que tiene una primera posición de aminoácidos y una última posición de aminoácidos, en donde la región C-terminal comprende los residuos de aminoácidos 21-29 de la SEQ ID NO: 99 [FGF19], RLRHLYTSG, y en donde el residuo R corresponde a la primera posición de la región C-terminal. En aspectos particulares, la región N-terminal comprende por lo menos 6 aminoácidos contiguos (o más, por ejemplo, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 20-25, 25-30, 30-40, 40-50, 50-75, 75-100 aminoácidos contiguos) de la SEQ ID NO: 100 [FGF21] que incluyen los residuos de aminoácidos GQV.

En una modalidad adicional, una secuencia de péptidos incluye o consiste de cualquiera de: una variante de secuencia del factor 19 de crecimiento de fibroblasto (FGF19) que tiene una o más sustituciones, inserciones o supresiones de aminoácidos comparados con un FGF19 de referencia o de tipo silvestre; una variante de secuencia del factor 21 de crecimiento de fibroblasto (FGF21) que tiene una o más sustituciones, inserciones o supresiones de aminoácidos comparadas con una FGF21 de referencia o de tipo silvestre; una porción de una secuencia de FGF19 fusionada a una porción de una secuencia FGF21; o una porción de una secuencia de FGF19 fusionada a una porción de una secuencia FGF21, en

donde la o las porciones de la secuencia de FGF19 y/o FGF21 tienen una o más sustituciones, inserciones o supresiones de aminoácidos comparadas con una FGF19 y/o FGF21 de referencia o de tipo silvestre.

En aún modalidades adicionales, una secuencia de péptidos o a secuencia de péptidos quiméricos incluye o consiste de aminoácidos amino-terminales 1-16 de la SEQ ID NO: 100 [FGF21] fusionada a aminoácidos carboxi-terminales 21-194 de la SEQ ID NO: 99 [FGF19], o la secuencia de péptidos tiene aminoácidos amino-terminales 1-147 de la SEQ ID NO: 99 [FGF19] fusionado a los aminoácidos carboxi-terminales 147-181 de la SEQ ID NO: 100 [FGF21] (M41), o la secuencia de péptidos tiene aminoácidos amino-terminales 1-20 de la SEQ ID NO: 99 [FGF19] fusionada a los aminoácidos carboxi-terminales 17-181 de la SEQ ID NO: 100 [FGF21] (M44), o la secuencia de péptidos tiene aminoácidos amino-terminales 1-146 de la SEQ ID NO: 100 [FGF21] fusionada a los aminoácidos carboxi-terminales 148-194 de la SEQ ID NO: 99 [FGF19] (M45), o la secuencia de péptidos tiene aminoácidos amino-terminales 1-20 de la SEQ ID NO: 99 [FGF19] fusionada a los aminoácidos internos 17- 146 de la SEQ ID NO: 100 [FGF21] fusionada a los aminoácidos carboxi-terminales 148-194 de la SEQ ID NO: 99 [FGF19] (M46).

En aún modalidades adicionales, una secuencia de péptidos o una secuencia de péptidos quiméricos tiene un

motivo de secuencia de WGDPI que corresponde a la secuencia de WGDPI de aminoácidos 16-20 de la SEQ ID NO: 99 [FGF19], o tiene un motivo de secuencia de WGDPI sustituido, mutado o ausente que corresponde a la secuencia de WGDPI de FGF19 de los aminoácidos 16-20 de FGF19, o el motivo de secuencia de WGDPI tiene uno o más aminoácidos sustituidos, mutados o ausentes; o es distinta de una secuencia variante de FGF19 que tiene cualquiera de GQV, GDI, WGPI, WGDPV, WGDI, GDPI, GPI, WGQPI, WGAPI, AGDPI, WADPI, WGDAI, WGDPA, WDPI, WGDI, WGDP o FGDPI sustituidos para la secuencia de WGDPI de FGF19 en los aminoácidos 16-20.

En aún modalidades adicionales, una secuencia de péptidos o una secuencia de péptidos quiméricos tiene una región N-terminal que incluye o consiste de residuos de aminoácidos VHYG, en donde la región N-terminal comprende residuos de aminoácidos DASPHVHYG, o en donde la región N-terminal comprende residuos de aminoácidos DSSPLVHYG, o en donde la región N-terminal comprende residuos de aminoácidos DSSPLLQ, o en donde la región N-terminal comprende residuos de aminoácidos DSSPLLQFGGQV. En aspectos particulares, la G corresponde a la última posición de la región N-terminal, o el residuo Q es la última posición de aminoácidos de la región N-terminal, o el residuo V corresponde a la última posición de la región N-terminal.

En aún modalidades adicionales, una secuencia de

péptidos o una secuencia de péptidos quiméricos tiene una región N-terminal que incluye o consiste de RHPIP, en donde R es la primera posición de aminoácidos de la región N-terminal; o HPIP (por ejemplo, en donde HPIP son los primeros 4 residuos de aminoácidos de la región N-terminal), en donde H es la primera posición de aminoácidos de la región N-terminal; o RPLAF, en donde R es la primera posición de aminoácidos de la región N-terminal; o PLAF, en donde P es la primera posición de aminoácidos de la región N-terminal; o R, en donde R es la primera posición de aminoácidos de la región N-terminal, o tiene en la región N-terminal cualquiera de las siguientes secuencias: MDSSPL, MSDSSPL, SDSSPL, MSSPL o SSPL.

En otras modalidades, una secuencia de péptidos o una secuencia de péptidos quiméricos tiene en la primera posición de la región N-terminal, un residuo "M", un residuo "R", un residuo "S", un residuo "H", un residuo "P", un residuo "L" o un residuo "D". En modalidades alternativas, una secuencia de péptidos o una secuencia de péptidos quiméricos no tiene un residuo "M" o un residuo "R" en la primera posición de aminoácidos de la región N-terminal.

En aún otras modalidades, una secuencia de péptidos o una secuencia de péptidos quiméricos tiene en la primera y segunda posiciones de la región N-terminal una secuencia MR, o en la primera y segunda posiciones de la región N-terminal una secuencia RM, o en la primera y segunda posiciones de la

región N-terminal una secuencia RD, o en la primera y segunda posiciones de la región N-terminal una secuencia DS, o en la primera y segunda posiciones de la región N-terminal una secuencia MD, o en la primera y segunda posiciones de la región N-terminal una secuencia MS, o en la primera a tercera posiciones de la región N-terminal una Secuencia MDS, o en la primera a tercera posiciones de la región N-terminal una secuencia RDS, o en la primera a tercera posiciones de la región N-terminal una secuencia MSD, o en la primera a tercera posiciones de la región N-terminal una secuencia MSS, o en la primera a tercera posiciones de la región N-terminal una secuencia DSS, o en la primera a cuarta posiciones de la región N-terminal una secuencia RDSS, o en la primera a cuarta posiciones de la región N-terminal una secuencia MDSS, o en la primera a quinta posiciones de la región N-terminal una secuencia MRDSS, o en la primera a quinta posiciones de la región N-terminal una secuencia MSSPL, o en la primera a sexta posiciones de la región N-terminal una secuencia MDSSPL, o en la primera a séptima posiciones de la región N-terminal una secuencia MSDSSPL.

En aún otras modalidades, una secuencia de péptidos o una secuencia de péptidos quiméricos además de los residuos de aminoácidos 30-194 de la SEQ ID NO: 99 [FGF19] en el C-término, que resulta en un polipéptido quimérico que tiene en la última posición de la región C-terminal que corresponde a

alrededor del residuo 194 de la SEQ ID NO: 99 [FGF19]. En otras modalidades adicionales, una secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos comprende todo o una porción de una secuencia de FGF19 (por ejemplo, SEQ ID NO: 99), colocada en el C-término del péptido, o en donde el residuo "R" amino-terminal se elimina del péptido. I

En modalidades más particulares, una secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos incluye. o consiste de cualquiera de las secuencias de péptidos variantes M1-M98, o una secuencia o fragmento cualquiera de las secuencias de péptidos M1-M98 variantes.

En modalidades particulares adicionales, una secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos tiene una región N-terminal o una C-terminal de alrededor de 20 a alrededor de 200 residuos de aminoácidos en longitud. En modalidades particulares adicionales, una secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos tiene por lo menos una eliminación de aminoácidos. En aún modalidades particulares adicionales, una secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos, o una subsecuencia o fragmento de la misma, tiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más eliminaciones de aminoácidos del término amino, el carboxi-término o internamente. En un aspecto particular no limitante, la sustitución de aminoácidos o eliminación se encuentra en

cualesquier posiciones de aminoácidos 8-20 de FGF19 (AGPHVHYGWGDPI).

En modalidades más particulares, una secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos incluye o consiste de una secuencia de aminoácidos de alrededor de 5 a 10, 10 a 20, 20 a 30, 30 a 40, 40 a 50, 60 a 70, 70 a 80, 80 a 90, 90 a 100 o más aminoácidos. En modalidades más particulares, una secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos incluye o consiste de una secuencia de aminoácidos de alrededor de 5 a 10, 10 a 20, 20 a 30, 30 a 40, 40 a 50, 50 a 60, 60 a 70, 70 a 80, 80 a 90, 90 a 100 o más aminoácidos de FGF19 o FGF21.

En modalidades particulares adicionales, las secuencias de péptidos quiméricos y las secuencias de péptidos tienen funciones o actividades particulares. En un aspecto, una secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos mantiene o incrementa una actividad mediada por FGFR4. En aspectos adicionales, una secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos se enlaza al receptor 4 del factor de crecimiento de fibroblasto (FGFR4) o activa FGFR4, o no se enlaza detectablemente al receptor 4 del factor de crecimiento de fibroblasto (FGFR4), o activa FGFR4, o enlaza a FGFR4 con una afinidad menor que, comparable a o mayor que FGF19 que enlaza la afinidad para FGFR4, o activa FGFR4 hasta un grado o cantidad menor que, comparable a o

mayor que FGF19 activa FGFR4. En aspectos adicionales, una secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos tiene formación de carcinoma hepatocelular reducida (HCC) comparada con FGF19, o una secuencia variante de FGF19 que tiene cualquiera de GQV, GDI, WGPI, WGDPV, WGDI, GDPI, GPI, WGQPI, WGAPI, AGDPI, WADPI, WGDAI, WGDPA, WDPI, WGDI, WGDP o FGDPI sustituido para la secuencia de WGDPI en aminoácidos 16-20 de FGF19, y/o tiene mayor actividad de disminución de glucosa comparada con FGF19, o una secuencia variante de FGF19 que tiene cualquiera de GQV, GDI, WGPI, WGDPV, WGDI, GDPI, GPI, WGQPI, WGAPI, AGDPI, WADPI, WGDAI, WGDPA, WDPI, WGDI, WGDP o FGDPI substituido para la secuencia de WGDPI en aminoácidos 16-20 de FGF19, y/o tiene menos actividad de aumento de lípidos comparada con FGF19, o una secuencia variante de que tiene cualquiera de GQV, GDI, WGPI, WGDPV, WGDI, GDPI, GPI, WGQPI, WGAPI, AGDPI, WADPI, WGDAI, WGDPA, WDPI, WGDI, WGDP o FGDPI sustituido para la secuencia de WGDPI en aminoácidos 16-20 de FGF19, y/o tiene menos triglicéridos, colesterol, sin HDL o actividad que aumenta HDL comparada con FGF19, o una secuencia variante de FGF19 que tiene cualquiera de GQV, GDI, WGPI, WGDPV, WGDI, GDPI, GPI, WGQPI, WGAPI, AGDPI, WADPI, WGDAI, WGDPA, WDPI, WGDI, WGDP o FGDPI sustituido para la secuencia de WGDPI en aminoácidos 16-20 de FGF19, y/o tiene menos masa magra que reduce la actividad comparada con FGF21. Tales funciones y

actividades pueden eliminarse in vitro o in vivo, por ejemplo, en un ratón *db/db*.

En aún modalidades adicionales, las secuencias de péptidos quiméricos y las secuencias de péptidos aisladas o purificada, y/o las secuencias de péptidos quiméricos y secuencias de péptidos pueden incluirse en composiciones. En una modalidad, una secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos se incluye en una composición farmacéutica. Tales composiciones incluyen combinaciones de ingredientes inactivos u otros activos. En una modalidad, una composición, tal como una composición farmacéutica incluye secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos y un agente de disminución de glucosa.

En aún modalidades adicionales, se proporcionan moléculas de ácido nucleico que codifican la secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos. Tales moléculas pueden incluir además un elemento de control de expresión en ligamento operable que confiere la expresión de la molécula de ácido nucleico que codifica el péptido in vitro, en una célula o in vivo, o un vector que comprende la molécula de ácido nucleico (por ejemplo, un vector viral). También se proporcionan células transformadas y huésped que expresan las secuencias de péptidos quiméricos y las secuencias.

También se proporcionan usos y métodos de tratamiento que incluyen la administración o suministro de

cualesquier secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos. En modalidades particulares, un uso o método de tratamiento de un sujeto incluye administrar péptido quimérico de la invención o secuencia de péptidos a un sujeto, tal como un sujeto que tiene, o en riesgo de tener, una enfermedad o trastorno tratable por una secuencia de péptidos de la invención, en una cantidad efectiva para tratar la enfermedad o trastorno. En una modalidad adicional, un método incluye administrar un péptido quimérico o secuencia de péptidos de la invención a un sujeto, tal como un sujeto que tiene un padecimiento hiperglicémico (por ejemplo, diabetes, tal como diabetes dependiente de insulina (tipo I), diabetes tipo II, o diabetes gestacional), resistencia a la insulina, hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa o síndrome metabólico, o es obeso o tiene una masa corporal indeseable.

En aspectos particulares de los métodos y usos, una secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos se administra a un sujeto en una cantidad efectiva para mejorar el metabolismo de glucosa en el sujeto. En más aspectos particulares, un sujeto tiene un nivel de glucosa en plasma en ayuna mayor que 100 mg/dl o tiene un nivel de hemoglobina Alc (HbAlc) por arriba de 6%, antes de la administración.

En modalidades adicionales, un uso o método de tratamiento de un sujeto se pretende para o resulta en

niveles de glucosa reducidos, sensibilidad a la insulina incrementada, resistencia a la insulina reducida, glucagón reducido, una mejora en la intolerancia a la glucosa, o metabolismo de glucosa u homeostasis, función pancreática mejorada, o niveles de triglicéridos, colesterol, IDL, LDL o VLDL reducidos, o una disminución en la presión sanguínea, una disminución en el engrosamiento íntimo de los vasos sanguíneos o una disminución en la masa corporal o ganancia de peso.

También se proporcionan métodos para analizar y/o identificar una secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos, tal como las secuencias de péptidos quiméricos y secuencias de péptidos que tienen actividad de disminución de glucosa sin la actividad de carcinoma hepatocelular sustancial (HCC). En una modalidad, un método incluye: a) proporcionar una secuencia de péptidos quiméricos candidato o secuencia de péptidos; b) administrar la secuencia de péptidos candidato en un animal de prueba (por ejemplo, un ratón db/db); c) medir los niveles de glucosa del animal después de la administración de la secuencia de péptidos candidato, para determinar si la secuencia de péptidos candidato reduce los niveles de glucosa. En un aspecto particular, la secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos también se analiza para la inducción de HCC en el animal (por ejemplo, la evaluación de una muestra de tejido

hepático del animal de prueba), o la expresión de un marcador que se correlaciona con la actividad de HCC, en donde un péptido candidato tiene actividad de disminución de glucosa y actividad de HCC no sustancial. Tales métodos identifican el candidato como que tiene actividad de disminución de glucosa, opcionalmente también sin actividad de carcinoma hepatocelular sustancial (HCC).

Descripción de los Dibujos

La **FIGURA 1** muestra las secuencias de proteína FGF19 y FGF21, y las secuencias variantes representativas, principalmente las secuencias de péptidos de variante M5, variante M1, variante M2, variante M69, variante M3, variante M48, variante M49, variante M50, variante M51, variante M52, variante M53 y variante M70. También se muestran 3 formas alélicas adicionales (polimórficas) de FGF21, principalmente M71, M72 y M73.

La **FIGURA 2** muestra cambios de dominio representativos entre las secuencias de proteína FGF21 (sin sombreado) y FGF19 (sombreado con gris), y las secuencias de fusión resultantes (quiméricas). Las regiones de aminoácido de cada una de FGF21 y FGF19 presentes en la fusión (quimera) se indican por los números. Se muestra la disminución de glucosa y la elevación de lípidos para cada una de las secuencias quiméricas.

Las **FIGURAS 3A-3I** muestran los datos de peso corporal y disminución de glucosa. A) variante M5; B) variante M1; C) variante M2 y variante M69; D) variante M3; E) variante M48 y variante M49; F) variante M51 y variante M50; G) péptido de la variante M52; H) péptido de la variante M53; e I) secuencias de péptidos de la variante M70 todas tienen actividad de disminución de glucosa (es decir, anti-diabética) en ratones db/db. Los ratones se inyectaron con vector AAV que expresa FGF19, FGF21, las variantes seleccionadas, y la solución salina y GFP son controles negativos.

Las **FIGURAS 4A-4I** muestran el perfil de lípidos en suero (triglicéridos, colesterol total, HDL y sin HDL) de los ratones db/db inyectados con el vector AAV que expresa FGF19, FGF21 o A) variante M5; B) variante M1; C) variante M2 y variante M69; D) variante M3; E) variante M48 y variante M49; F) variante M51 y variante M50; G) péptido de la variante M52; H) péptido de la variante M53; e I) secuencias de péptidos de la variante M70. La secuencia de péptidos de la variante M5 no incrementa o eleva los lípidos, en contraste con FGF19, M1, M2 y M69 que incrementa y eleva los lípidos. Los niveles de suero de todas las variantes fueron comparables. La solución salina y GFP son controles negativos.

Las **FIGURAS 5A-5I** muestran datos relacionados con

el carcinoma hepatocelular (HCC) para A) variante M5; B) variante M1; C) variante M2 y variante M69; D) variante M3; E) variante M48 y variante M49; F) variante M51 y variante M50; G) variante M52; H) péptido de la variante M53; e I) secuencias de péptidos de la variante M70. Todas las variantes no incrementaron significativamente o indujeron a la formación de carcinoma hepatocelular (HCC) o tumorigénesis HCC, en contraste con FGF19. Puntales de HCC se registraron como el número de nódulos de HCC sobre la superficie del hígado entero de los ratones inyectados con variantes divididos por el número de nódulos de HCC de ratones inyectados con FGF19 del tipo silvestre.

Las **FIGURAS 6A-6I** muestran los datos de masa magra o masa grasa para A) variante M5; B) variante M1; C) variante M2 y variante M69; D) variante M3; E) variante M48 y variante M49; F) variante M51 y variante M50; G) variante M52; H) péptido de la variante M53; e I) secuencias de péptidos de la variante M70. Excepto para M2, M5 y M69, las secuencias de péptidos variantes reducen la masa magra o masa grasa, en contraste con FGF21.

Las **FIGURAS 7A-7B** muestran datos gráficos que demuestran que la inyección del recombinante A) variante M5; y B) polipéptidos de la variante M69 reducen la glucosa en sangre en ratones *ob/ob*.

La **FIGURA 8** muestra los datos que indican que la

expresión hepática de la familia 1 aldo-ceto reductasa, el miembro C18 (Akr1C18) y la familia 1 del portador soluble, miembro 2 (slc1a2) parece correlacionarse con la actividad de HCC.

Descripción Detallada

La invención proporciona secuencias quiméricas y de péptidos que son capaces de disminuir o reducir los niveles de glucosa. En una modalidad, una secuencia de péptidos quiméricos incluye o consiste de una región N-terminal que tiene por lo menos siete residuos de aminoácidos y la región N-terminal que tiene una primera posición de aminoácidos y una última posición de aminoácidos, en donde la región N-terminal tiene una secuencia DSSPL o DASPH; y una región C-terminal que tiene una porción de FGF19 y la región C-terminal que tiene una primera posición de aminoácidos y una última posición de aminoácidos, en donde la región C-terminal incluye residuos de aminoácidos 16-29 de FGF19 (WGDPIRLRHLYTSG) y el residuo W corresponde a la primera posición de aminoácidos de la región C-terminal.

En otra modalidad, una secuencia de péptidos quiméricos incluye o consiste de una región N-terminal que tiene una porción de FGF21 y la región N-terminal que tiene una primera posición de aminoácidos y una última posición de aminoácidos, en donde la región N-terminal tiene una

secuencia de GQV y el residuo V corresponde a la última posición de aminoácidos de la región N-terminal; y una región C-terminal que tiene una porción de FGF19 y la región C-terminal que tiene una primera posición de aminoácidos y una última posición de aminoácidos en donde la región C-terminal incluye residuos de aminoácidos 21-29 de FGF19 (RLRHLYTSG) y el residuo R corresponde a la primera posición de la región C-terminal.

En modalidades adicionales, una secuencia de péptidos incluye o consiste de una variante de la secuencia del factor 19 de crecimiento de fibroblasto (FGF19) que tiene una o más sustituciones, inserciones o supresiones de aminoácidos comparadas con un FGF19 de referencia o de tipo silvestre. En modalidades adicionales, una secuencia de péptidos incluye o consiste de una variante de secuencia del factor 21 de crecimiento de fibroblasto (FGF21) que tiene una o más sustituciones, inserciones o supresiones de aminoácidos comparadas con una FGF21 de referencia o de tipo silvestre. En aún modalidades adicionales, una secuencia de péptidos incluye o consiste de una porción de una secuencia de FGF19 fusionada a una porción de una secuencia FGF21. En aún modalidades adicionales, una secuencia de péptidos incluye o consiste de una porción de una secuencia de FGF19 fusionada a una porción de una secuencia FGF21, en donde la o las porciones de secuencia de FGF19 y/o FGF21 tienen una o más

sustituciones, inserciones o supresiones de aminoácidos comparadas con una FGF19 y/o FGF21 de referencia o de tipo silvestre.

La invención también proporciona métodos y usos para tratar a un sujeto que tiene o en riesgo de tener un trastorno metabólico tratable utilizando variantes y fusiones de las secuencias de péptidos del factor 19 de crecimiento de fibroblasto (FGF19) y/o del factor 21 de crecimiento de fibroblasto (FGF21). En una modalidad, un método incluye poner en contacto o administrar a un sujeto una o más secuencias de péptidos del factor 19 de crecimiento de fibroblasto (FGF19) y/o del factor 21 de crecimiento de fibroblasto (FGF21) en una cantidad efectiva para tratar el trastorno. En otra modalidad, un método incluye poner en contacto o administrar a un sujeto una o más moléculas de ácido nucleico que codifican una variante o fusión de la secuencia de péptidos del factor 19 de crecimiento de fibroblasto (FGF19) y/o del factor 21 de crecimiento de fibroblasto (FGF21) (por ejemplo, un elemento de control de expresión en el ligamento operable con ácido nucleico que codifica la secuencia de péptidos, incluyendo opcionalmente un vector), en una cantidad efectiva para tratar el trastorno.

Aunque no se requiere un entendimiento del mecanismo subyacente de acción de los péptidos de la

invención para la práctica de la invención, sin que se una ninguna teoría particular o hipótesis, se cree que los péptidos de la invención imitan, al menos en parte, el efecto que tiene las cirugía bariátrica, por ejemplo, en homeostasis de glucosa y pérdida de peso. Los cambios en la secreción de hormona gastrointestinal (por ejemplo, el péptido 1 similar a glucagón (GLP-1)) después de la cirugía bariátrica se cree que es responsable de la resolución de, por ejemplo, los padecimientos diabéticos. FGF19 se expresa altamente en el intestino delgado distante y la sobre-expresión transgénica de FGF19 mejora la homeostasis de glucosa. Debido a que los niveles de FGF19 en humanos también se elevan después de la cirugía de bypass gástrico, el FGF19 elevado puede implicarse con la remisión de diabetes observada después de la cirugía bariátrica.

Una referencia representativa de la secuencia de FGF19 de tipo silvestre se establece como:

RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEI KAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHR LPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPF GLVTGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO: 99).

Una referencia representativa o secuencia FGF21 de tipo silvestre se establece como:

HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKP GVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPG

NKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS (SEQ ID NO: 100). Las variantes alélicas de FGF21 se ilustran en la Figura 1 (por ejemplo, M70, M71 y M72).

Los términos secuencia de "péptido", "proteína", y "polipéptido" se utilizan intercambiablemente en la presente para referirse a dos o más aminoácidos, o "residuos", que incluyen modificaciones químicas y derivados de aminoácidos, enlazados covalentemente por una unión amida o equivalente. Los aminoácidos que forman todo o parte del péptido pueden ser de entre 21 aminoácidos que ocurren naturalmente conocidos, los cuales se denominan por ambas de sus abreviaturas de una sola letra o las abreviaturas de tres letras comunes. En las secuencias de péptidos de la invención, los residuos de aminoácidos convencionales tienen su significado convencional. Por lo tanto, "Leu" es leucina, "Ile" es isoleucina, "Nle" es norleucina, y así sucesivamente.

Se ejemplifican en la presente secuencias de péptidos, distintas de los polipéptidos de referencia FGF19 y FGF21 establecidos en la presente, que reducen o disminuyen la, *in vivo* (Tablas 1-8 y la Figura 1). Los ejemplos particulares no limitantes son una secuencia de péptidos con aminoácidos amino-terminales 1-16 de FGF21 fusionados a los aminoácidos carboxi-terminales 21-194 de FGF19; una secuencia de péptidos con aminoácidos amino-terminales 1-147 de FGF19

fusionados a los aminoácidos carboxi-terminales 147-181 de FGF21; una secuencia de péptidos con aminoácidos amino-terminales 1-20 de FGF19 fusionados a los aminoácidos carboxi-terminales 17-181 de FGF21; una secuencia de péptidos con aminoácidos amino-terminales 1-146 de FGF21 fusionados a los aminoácidos carboxi-terminales 148-194 de FGF19; y una secuencia de péptidos con aminoácidos amino-terminales 1-20 de FGF19 fusionados a los aminoácidos internos 17-146 de FGF21 fusionados a los aminoácidos carboxi-terminales 148-194 de FGF19.

Las secuencias de péptidos particulares adicionales tienen un motivo de secuencia de WGDPI que corresponde a la secuencia de WGDPI de los aminoácidos 16-20 de FGF19, carencia de un motivo de secuencia de WGDPI que corresponde a la secuencia de WGDPI de los aminoácidos 16-20 de FGF19, o tiene motivo de secuencia de WGDPI sustituido (es decir, mutado) que corresponde a la secuencia de WGDPI de FGF19 de los aminoácidos 16-20 de FGF19.

Las secuencias de péptidos particulares de la invención también incluyen secuencias distintas de FGF19 y FGF21 (por ejemplo, como se establece en la presente), y las secuencias de variante de FGF19 que tienen cualquiera de GQV, GDI, WGPI, WGDPV, WGDI, GDPI, GPI, WGQPI, WGAPI, AGDPI, WADPI, WGDAI, WGDPA, WDPI, WGDI, WGDP o FGDPI sustituido para la secuencia de WGDPI de FGF19 en los aminoácidos 16-20. Por

consiguiente, la FGF19 y FGF21 de tipo silvestre (por ejemplo, como se establece en la presente como SEQ ID NOS: 99 y 100, respectivamente) pueden ser secuencias excluidas, y FGF19 que tiene cualquiera de GQV, GDI, WGPI, WGDPV, WGDI, GDPI, GPI, WGQPI, WGAPI, AGDPI, WADPI, WGDAI, WGDPA, WDPI, WGDI, WGDP o FGDPI sustituido para la secuencia de WGDPI de aminoácidos 16-20 de FGF19 también pueden excluirse. Esta exclusión, sin embargo, no aplica donde una secuencia tiene, por ejemplo, 3 residuos FGF21 fusionados a FGF19 que tiene por ejemplo, cualquiera de GQV, GQV, GDI, o GPI, o 2 residuos fusionados a FGF21 a cualquiera de WGPI, WGDI, GDPI, WDPI, WGDI, o WGDP.

Ejemplos particulares no limitantes de las secuencias de péptidos incluyen o consisten de todo o parte de una variante de secuencia especificada en la presente como M1-M98 (SEQ ID NOS: 1-98). Ejemplos adicionales particulares no limitantes de las secuencias de péptidos incluyen o consisten de todo o parte de una secuencia establecida como: HPIPDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGWDCARGQSAHSLLEIKAVAL RTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKFrRLPVSLS SAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGL EAVRSPSFEK (las secuencias FGF21 también pueden incluir un residuo "R" en el término amino), o una subsecuencia o fragmento del mismo; o

DSSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV

AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAK
QRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAV
RSPSFEK, o una subsecuencia o fragmento del mismo; o
RPLAFSDASPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEI
KAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHR
LPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPF
GLVTGLEAVRSPSFEK, o una subsecuencia o fragmento del mismo; o
RPLAFSDSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIK
AVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRL
PVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFG
LVTGLEAVRSPSFEK, o una subsecuencia o fragmento del mismo; o
DSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALR
TVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSS
AKQRQLYKRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLE
AVRSPSFEK, o una subsecuencia o fragmento del mismo; o
RDSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVAL
RTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYTWYRSEKHRLPVSLS
SAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGL
EAVRSPSFEK (M69), o una subsecuencia o fragmento del mismo; o
RDSSPLLQWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRT
VAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSA
KQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEA
VRSPSFEK (M52), o una subsecuencia o fragmento del mismo; o
HPIPDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGWDCARGQSAHSLLEIKAVAL
RTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYVYRSEKHRLPVSLS

SAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGL EAVRSPSFEK (M5), o una subsecuencia o fragmento del mismo; HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKP GVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHSLPLHLPG NKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS (M71), o una subsecuencia o fragmento del mismo; o HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKP GVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPG NKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS (M72), o una subsecuencia o fragmento del mismo; o HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKP GVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPG NKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVVQDELQGVGGEG CHMHPENCKTLLTDIDRTHTEKPVWDGITGE (M73), o una subsecuencia o fragmento del mismo; o RPLAFSDASPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEI KAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHR LPVSLSSAKQRQLYKRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPF GLVTGLEAVRSPSFEK (M1), o una subsecuencia o fragmento del mismo; o RPLAFSDSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIK AVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRL PVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFG LVTGLEAVRSPSFEK (M2), o una subsecuencia o fragmento del mismo; o

RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEI KAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEILEDGYNVYRSEKHR LPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPF GLVTGLEAVRSPSFEK (M3), o una subsecuencia o fragmento del mismo; o

RDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRT VAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSA KQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEA VRSPSFEK (M48), o una subsecuencia o fragmento del mismo; o

RPLAFSDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKA VALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLP VSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGL VTGLEA VRSPSFEK (M49), o una subsecuencia o fragmento del mismo; o

RHPIPDSSPLLQFGDQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVA LRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEILEDGYNVYRSEKHRLPVSL SSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSSPLETDSMDPFGLVTG LEAVRSPSFEK (M50), o una subsecuencia o fragmento del mismo; o

RHPIPDSSPLLQFGGNVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVA LRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSL SSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTG LEAVRSPSFEK (M51), o una subsecuencia o fragmento del mismo; o

MDSSPLLQWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRT

VAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSA KQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEA VRSPSFEK (M53), o una subsecuencia o fragmento del mismo; y MRDSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRTRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAV ALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPV SLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLV TGLEAVRSPSFEK (M70), o una subsecuencia o fragmento del mismo, o cualquiera de las secuencias de péptidos anteriores al residuo terminal R pueden eliminarse.

Ejemplos no limitantes particulares adicionales de las secuencias de péptidos incluyen o consisten de: HPIPDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGWDCARGQSAHSLLEIKAVAL RTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLS SAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGL EAVRSPSFEK, o una subsecuencia o fragmento del mismo; o DSSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAK QRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAV RSPSFEK, o una subsecuencia o fragmento del mismo; RPLAFSDASPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEI KAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHR LPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPF GLVTGLEAVRSPSFEK, o una subsecuencia o fragmento del mismo; RPLAFSDSSPLVHYGWGDPrRLRHLYTSGPHGLSSCFLRrRADGVVDCARGQSAHSLLEIK AVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRL

PVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFG LVTGLEAVRSPSFEK, o una subsecuencia o fragmento del mismo; DSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALR TVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEFRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSS AKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVEPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLE AVRSPSFEK, o una subsecuencia o fragmento del mismo.

Ejemplos no limitantes particulares adicionales de las secuencias de péptidos, que tienen en el N-término, una secuencia de péptidos que incluye o consiste de todo o parte cualquiera de:

HPIPDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSG (M5); DSSPLLQFGGQVRLRHLYTSG (M6); RPLAFSDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSG (M7); HPIPDSSPLLQWGDPIRLRHLYTSG (M8); HPIPDSSPLLQFGWGDPIRLRHLYTSG (M9); HPIPDSSPHVHYGWGDPIRLRHLYTSG (M10); RPLAFSDAGPLLQWGDPIRLRHLYTSG (M11);

RPLAFSDAGPLLQFG WGDPIRLRHLYTSG (M12);

RPLAFSDAGPLLQFGGQVRLRHLYTSG (M13); HPIPDSSPHVHYGGQVRLRHLYTSG (M14); RPLAFSDAGPHVHWGDPIRLRHLYTSG (M15); RPLAFSDAGPHVHWGDPI RLRHLYTSG (M16); RPLAFSDAGPHVGWGDPI RLRHLYTSG (M17); RPLAFSDAGPHYGWGDPIRLRHLYTSG (M18); RPLAFSDAGPVYGWGDPIRLRHLYTSG (M19); RPLAFSDAGPVHGWGDPIRLRHLYTSG (M20);

RPLAFSDAGPVHYWGDPIRLRHLYTSG (M21);

RPLAFSDAGPHVHG WGDPIRLRHLYTSG (M22);

RPLAFSDAGPHHGWGDPIRLRHLYTSG (M23); RPLAFSDAGPHHYWGDPIRLRHLYTSG (M24); RPLAFSDAGPHVYWGDPIRLRHLYTSG (M25);

RPLAFSDSSPLVHWGDPIRLRHLYTSG (M26); RPLAFSDSSPHVHWGDPIRLRHLYTSG

(M22); RPLAFSDAGPHVWGDPIRLRHLYTSG (M28); RPLAFSDAGPHVHYWGDPI RLRHLYTSG (M29); RPLAFSDAGPHVHYAWGDPIRLRHLYTSG (M30); RHPIPDSSPLLQFGAQVRLRHLYTSG (M31); RHPIPDSSPLLQFGDQVRLRHLYTSG (M32); RHPIPDSSPLLQFGPQVRLRHLYTSG (M33); RHPIPDSSPLLQFGGAVRLRHLYTSG (M34); RHPIPDSSPLLQFGGEVRLRHLYTSG (M35); RHPIPDSSPLLQFGGNVRLRHLYTSG (M36); RHPIPDSSPLLQFGGQARLRHLYTSG (M37); RHPIPDSSPLLQFGGQIRLRHLYTSG (M38); RHPIPDSSPLLQFGGQTRLRHLYTSG (M39); RHPIPDSSPLLQFGWGQPVRLRHLYTSG (M40); DAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSG (M74); VHYGWGDPIRLRHLYTSG (M75); RLRHLYTSG (M77); RHPIPDSSPLLQFGWGDPIRLRHLYTSG; RHPIPDSSPLLQWGDPIRLRHLYTSG; RPLAFSDAGPLLQFGWGDPI RLRHLYTSG; RHPIPDSSPHVHYGWGDPIRLRHLYTSG; RPLAFSDAGPLLQFGGQVRLRHLYTSG; RHPIPDSSPHVHYGGQVRLRHLYTSG; RPLAFSDAGPHVHYGGDIRLRHLYTSG; RDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSG; RPLAFSDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSG; RHPIPDSSPLLQFGAQVRLRHLYTSG; RHPIPDSSPLLQFGDQVRLRHLYTSG; RHPIPDSSPLLQFGPQ VRLRHLYTSG; RHPIPDSSPLLQFGGAVRLRHLYTSG; RHPIPDSSPLLQFGGEVRLRHLYTSG; RHPIPDSSPLLQFGGNVRLRHLYTSG; RHPIPDSSPLLQFGGQARLRHLYTSG; RHPIPDSSPLLQFGGQIRLRHLYTSG; RHPIPDSSPLLQFGGQTRLRHLYTSG; RHPIPDSSPLLQFGWGQPVRLRHLYTSG; y para cualquiera de las secuencias de péptidos anteriores del residuo R terminal amino pueden eliminarse

Las secuencias de péptidos de la invención incluyen adicionalmente aquellas con inducción reducida o ausente o formación de carcinoma hepatocelular (HCC) comparado con

FGF19, o una secuencia variante de FGF19 que tiene cualquiera de GQV, GDI, WGPI, WGDPV, WGDI, GDPI, GPI, WGQPI, WGAPI, AGDPI, WADPI, WGDAI, WGDPA, WDPI, WGDI, WGDP o FGDPI sustituido para la secuencia de WGDPI en los aminoácidos 16-20 de FGF19. Las secuencias de péptidos de la invención también incluyen aquellas con mayor actividad de disminución de glucosa comparadas con FGF19, o una secuencia variante de FGF19 que tiene cualquiera de GQV, GDI, WGPI, WGDPV, WGDI, GDPI, GPI, WGQPI, WGAPI, AGDPI, WADPI, WGDAI, WGDPA, WDPI, WGDI, WGDP o FGDPI sustituido para la secuencia de WGDPI en los aminoácidos 16-20 de FGF19. Las secuencias de péptidos de la invención además incluyen aquellas con menos actividad de incremento de lípidos (por ejemplo, triglicéridos, colesterol, sin HDL o HDL) comparadas con FGF19, o una secuencia variante de FGF19 que tiene cualquiera de GQV, GDI, WGPI, WGDPV, WGDI, GDPI, GPI, WGQPI, WGAPI, AGDPI, WADPI, WGDAI, WGDPA, WDPI, WGDI, WGDP o FGDPI sustituido para la secuencia de WGDPI en los aminoácidos 16-20 de FGF19.

Típicamente, el número de aminoácidos o residuos en una secuencia de péptidos de la invención tendrá un total menor que alrededor de 250 (por ejemplo, aminoácidos o miméticos del mismo). En diversas modalidades particulares, el número de residuos comprende alrededor de 20 hasta alrededor de 200 residuos (por ejemplo, aminoácidos o miméticos del mismo). En modalidades adicionales, el número

de residuos comprende de alrededor de 50 hasta alrededor de 200 residuos (por ejemplo, aminoácidos o miméticos del mismo). En modalidades adicionales, el número de residuos comprende de alrededor de 100 hasta alrededor de 195 residuos (por ejemplo, aminoácidos o miméticos del mismo) en longitud.

Los aminoácidos o residuos pueden enlazarse por amida o por enlaces químicos o naturales y sin amida que incluyen, por ejemplo, aquellos formados con glutaraldehído, ésteres de N-hidroxisuccinimida, maleimidas bifuncionales, o N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC). Las uniones sin amida incluyen, por ejemplo, cetometileno, aminometileno, olefina, éter, tioéter y similares (véase, por ejemplo, Spatola in Chemistry and Biochemistry of Amino Acids. Peptides and Proteins, Vol. 7, pp 267-357 (1983), "Peptide and Backbone Modifications", Marcel Decker, NY). Por lo tanto, cuando un péptido de la invención incluye una porción de una secuencia de FGF19 y una porción de la secuencia de FG21, las dos porciones necesitan unirse entre sí por un enlace amida, aunque pueden unirse por cualquier otra porción química o conjugada juntas mediante una porción de enlazadora.

La invención también incluye subsecuencias, variantes y formas modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas (que incluyen las variantes y subsecuencias FGF19 y FGF21 listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1, y las fusiones y quimeras FGF19/FGF21 listadas en las Tablas 1-8 y

la Figura 1), mientras que lo anterior retiene al menos una actividad o función detectable o medible. Por ejemplo, ciertos péptidos variantes ejemplificados tienen secuencia C-terminal FGF19, PHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVH SVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKN RGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK en la porción C-termina, por ejemplo, después de los residuos de aminoácidos "TSG" de la variante.

También, ciertos péptidos variantes ejemplificados, por ejemplo, aquellos que tienen toda o una porción de la secuencia FGF21 en el término amino, tienen un residuo "R" colocado en el N-término, el cual puede omitirse. Similarmente, ciertos péptidos variantes ejemplificados, incluyen un residuo "M" colocado en el N-término, que puede adjuntarse a o sustituirse adicionalmente por un residuo omitido, tal como un residuo "R". Más particularmente, en diversas modalidades las secuencias de péptidos en el N-término incluyen cualquiera de: RDSS, DSS, MDSS o MRDSS. Además, en las células cuando un residuo "M" se encuentra adyacente a un residuo "S", el residuo "M" puede escindirse de tal manera que el residuo "M" se elimine de la secuencia de péptidos, mientras que cuando el residuo "M" se encuentra adyacente a un residuo "D", el residuo "M" no puede escindirse. Por ejemplo, a modo de ejemplo, en diversas modalidades las secuencias de péptidos incluyen aquellas con

los siguientes residuos en el N-término: MDSSPL, MSDSSPL (escindido a SDSSPL) y MSSPL (escindido a SSPL).

Por consiguiente, las secuencias de "péptido", "polipéptido", y "proteína" de la invención incluyen subsecuencias, variantes y formas modificadas de las variantes FGF19 y FGF21 y las subsecuencias listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1, y fusiones FGF19/FGF21 y quimeras listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1, siempre que la subsecuencia, variante o forma modificada (por ejemplo, fusión o quimera) retenga al menos una actividad o función detectable.

Como se utiliza en la presente, el término "modificar" y variaciones gramaticales de la misma significan que la composición se desvía en relación con una composición de referencia, tal como una secuencia de péptidos. Tales secuencias de péptidos modificadas, ácidos nucleicos y otras composiciones pueden tener mayor o menor actividad o función, o tener una función o actividad distinta comparada con una secuencia de péptidos sin modificar de referencia, ácido nucleico, u otra composición, o puede tener una propiedad deseable en una proteína formulada por terapia (por ejemplo, vida media en suero), obtener anticuerpos para su uso en ensayo de detección, y/o para purificación de proteína. Por ejemplo, una secuencia de péptidos de la invención puede modificarse para incrementar la vida media, para incrementar

la estabilidad in vitro y/o in vivo de la proteína, etc.

Ejemplos particulares de tales subsecuencias, variantes y formas modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas en la presente (por ejemplo, una secuencia de péptidos listada en las Tablas 1-8 y la Figura 1) incluyen sustituciones, eliminaciones y/o inserciones/adiciones de uno o más aminoácidos, para o desde el amino término, la carboxi-término o internamente. Un ejemplo es una sustitución de un residuo aminoácido para otro residuo aminoácido dentro de la secuencia de péptidos. Otro es una eliminación de uno o más residuos de aminoácidos de la secuencia de péptidos, o una inserción o adición de uno o más residuos de aminoácidos en la secuencia de péptidos.

El número de residuos sustituidos, eliminados o insertados/agregados son uno o más aminoácidos (por ejemplo, 1-3, 3-5, 5-10, 10-20, 20-30, 30-40, 40-50, 50-60, 60-70, 70-80, 80-90, 90-100, 100-1 10, 110-120, 120-130, 130-140, 140-150, 150-160, 160-170, 170-180, 180-190, 190-200, 200-225, 225-250, o más) de una secuencia de péptidos. Por lo tanto, una Secuencia FGF19 o FGF21 puede tener pocos o muchos aminoácidos sustituidos, eliminados o insertados/agregados (por ejemplo, 1-3, 3-5, 5-10, 10-20, 20-30, 30-40, 40-50, 50-60, 60-70, 70-80, 80-90, 90-100, 100-110, 110-120, 120-130, 130-140, 140-150, 150-160, 160-170, 170-180, 180-190, 190-200, 200-225, 225-250, o más). Además, una Secuencia de

aminoácidos FGF19 puede incluir o consistir de una secuencia de aminoácidos de alrededor de 1-3, 3-5, 5-10, 10-20, 20-30, 30-40, 40-50, 50-60, 60-70, 70-80, 80-90, 90-100, 100-110, 110-120, 120-130, 130-140, 140-150, 150-160, 160-170, 170-180, 180-190, 190-200, 200-225, 225-250, o más aminoácidos de FGF21 ; o un Aminoácido FGF21 o secuencia puede incluir o consistir de una secuencia de aminoácidos de alrededor de 1-3, 3-5, 5-10, 10-20, 20-30, 30-40, 40-50, 50-60, 60-70, 70-80, 80-90, 90-100, 100-110, 110-120, 120-130, 130-140, 140-150, 150-160, 160-170, 170-180, 180-190, 190-200, 200-225, 225-250, o más aminoácidos de FGF19.

Los ejemplos específicos de sustituciones incluyen sustituir un residuo D o un residuo L. Por consiguiente, aunque los residuos se listan en la configuración de isómero L de aminoácidos D en cualquier posición particular o todas las posiciones de las secuencias de péptidos de la invención se incluyen a menos que el isómero D conduzca a una secuencia que no tiene función detectable o medible.

Los ejemplos específicos adicionales son sustituciones no conservadoras y conservadoras. Una "sustitución conservadora" es un remplazo de un aminoácido por un residuo biológica, química o estructuralmente similar. Biológicamente similar significa que la sustitución es compatible con una actividad biológica, por ejemplo, la actividad de disminución de glucosa. Estructuralmente similar

significa que los aminoácidos tienen cadenas laterales con longitud similar, tal como alanina, glicina y serina, o que tienen tamaño similar, o la estructura de una secuencia de péptido primera, segunda o adicional. Química similar que los residuos tienen la misma carga o ambos son hidrofílicos e hidrofóbicos. Ejemplos particulares incluyen la sustitución de un residuo hidrofóbico, tal como isoleucina, valina, leucina o metionina por otro, o la sustitución de un residuo polar por otro, tal como la sustitución de arginina por lisina, ácido glutámico por aspártico, o glutamina por asparagina, serina por treonina, etc. Los ensayos de rutina pueden utilizarse para determinar si una forma de subsecuencia variante o modificada tiene actividad, por ejemplo, actividad de disminución de glucosa.

Ejemplos particulares de formas de subsecuencias variantes y modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas en la presente (por ejemplo, una secuencia de péptidos listada en las Tablas 1-8 y la Figura 1) tiene 50%-60%, 60%-70%, 70%-75%, 75%-80%, 80%-85%, 85%-90%, 90%-95%, o 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad en una secuencia de péptidos de referencia (por ejemplo, una secuencia de péptidos en cualquiera de las Tablas 1-8 y la Figura 1). El término "identidad" y "homología" y variaciones gramaticales de los mismos significan que dos o más entidades de referencia son las mismas. Por lo tanto, donde dos secuencias

de aminoácidos son idénticas, tienen la secuencia de aminoácidos idéntica. Las "áreas, regiones o dominios de identidad" significan que una porción de dos o más entidades de referencia son las mismas. Por lo tanto, en donde dos secuencias de aminoácidos son idénticas u homólogas sobre una o más regiones de secuencia, comparten la identidad en estas regiones.

El grado de identidad entre dos secuencias puede determinarse utilizando un programa de computadora y algoritmo matemático conocido en la técnica. Tales algoritmos calculan el porcentaje de identidad de secuencia (homología) generalmente cuenta los espacios libres y desajustes de la secuencia sobre la región de comparación. Por ejemplo, un algoritmo de búsqueda BLAST (por ejemplo, BLAST 2.0) (véase, por ejemplo, Altschul et al., *J. Mol. Biol.* 215:403 (1990), públicamente disponible a través de NCBI) tiene parámetros de búsqueda ejemplares como sigue: Punto de Coincidencia -2; abertura de espacio 5; extensión de espacio 2. Para las comparaciones de secuencia de péptidos, a un algoritmo BLASTP se utiliza típicamente en combinación con una matriz de puntaje, tal como PAM100, PAM 250, BLOSUM 62 o BLOSUM 50. Los programas de comparación de secuencia FASTA (por ejemplo, FASTA2 y FASTA3) y SSEARCH también se utilizan para cuantificar el grado de identidad (Pearson et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988); Pearson, *Methods Mol*

Biol. 132: 185 (2000); and Smith et al., *J. Mol. Biol.* 147: 195 (1981)). Los programas para cuantificar la similaridad estructural de la proteína utilizando la correlación topológica basada en Delaunay también se ha desarrollado (Bostick et al., *Biochem Biophys Res Commun.* 304:320 (2003)).

En las secuencias de péptidos de la invención, que incluyen subsecuencias, variantes y formas modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas en la presente (por ejemplo, secuencias listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1) un "aminoácido" o "residuo" incluye alfa-aminoácidos convencionales así como también beta-aminoácidos, alfa, aminoácidos alfa disustituidos y aminoácidos N-sustituidos en donde por lo menos una cadena lateral es una porción de cadena lateral de aminoácido como se define en la presente. Un "aminoácido" además incluye N-alquilo alfa-aminoácidos, en donde el grupo amino N-término tiene un sustituyente alquilo lineal o ramificado de C_1 a C_6. El término "aminoácido" por lo tanto incluye estereoisómeros y modificaciones de aminoácidos de proteína de origen natural, aminoácidos sin proteína, aminoácidos post-translacionalmente modificados (por ejemplo, por glicosilación, fosforilación, escisión de éster o amida, etc.), aminoácidos enzimáticamente modificados o sintetizados, aminoácidos derivados, constructos o estructuras diseñadas para imitar los aminoácidos, aminoácidos con una porción de cadena lateral modificada,

derivada de porciones de origen natural, o sintéticas, o que no son de origen natural, etc. Los aminoácidos modificados e inusuales se incluyen en las secuencias de péptidos de la invención (véase, por ejemplo, en Synthetic Peptides: A User's Guide; Hruby et al, *Biochem. J.* 268:249 (1990); and Toniolo C, *Int. J. Péptido Protein Res.* 35:287 (1990)).

Además, se incluyen grupos de protección y modificación de aminoácidos. El término "porción de cadena lateral de aminoácido" como se utiliza en la presente incluye cualquier cadena lateral de cualquier aminoácido, como se define en la presente término "aminoácido". Esto por lo tanto incluye la porción de cadena lateral en aminoácidos de origen natural. Se incluyen además porciones de cadena lateral en aminoácidos de origen natural modificados como se establece en la presente y se conoce por alguien con experiencia en la técnica, tal como las porciones de cadena lateral en estereoisómeros y modificaciones de aminoácidos de proteína de origen natural, aminoácidos sin proteína, aminoácidos post-translacionalmente modificados, aminoácidos enzimáticamente modificados o sintetizados, aminoácidos derivatizados, constructos o estructuras diseñadas para imitar los aminoácidos, etc. Por ejemplo, la porción de cadena lateral de cualquier aminoácido descrito en la presente o conocido por alguien con experiencia en la técnica se incluye dentro de la definición.

Un "derivado de una porción de cadena lateral de aminoácido" se incluye dentro de la definición de una porción de cadena lateral de aminoácido. Ejemplos no limitantes de porciones de cadena lateral de aminoácidos incluyen, por ejemplo: (a) agregar uno o más átomos de carbono saturados o insaturados en una cadena alquilo, arilo o aralquilo existente; (b) sustituir un carbono en la cadena lateral con otro átomo, de preferencia oxígeno o nitrógeno; (c) agregar un grupo terminal a un átomo de carbono de la cadena lateral, incluyendo metilo (--CH_3), metoxi (--OCH_3), nitro (--NO_2), hidroxilo (--OH), o ciano (--C=N); (d) para porciones de cadena lateral incluir uno de los grupos hidroxi, tiol o amino, agregar un grupo protector hidroxi, tiol o amino adecuado; o (e) para porciones de cadena lateral incluir una estructura de anillo, agregar uno o más sustituyentes en el anillo, que incluyen grupos hidroxilo, halógeno, alquilo, o arilo unidos directamente o a través de un ligamento de éter. Para grupos amino, los grupos protectores adecuados se conocen por el técnico especializado. Siempre que tal derivatización proporcione una actividad deseada en la secuencia de péptidos final (por ejemplo, disminución de glucosa, metabolismo de glucosa o lípido mejorada, actividad anti-diabética, ausencia de formación de HCC sustancial o tumorigénesis, ausencia de modulación sustancial de la masa magra o grasa, etc.).

Una "porción de cadena lateral de aminoácido" incluye toda la derivatización, y los ejemplos no limitantes particulares incluyen: ácido gamma-amino butírico, ácido 12-amino dodecanoico, ácido alfa-aminoisobutírico, ácido 6-amino hexanoico, ácido 4-(aminometil)-ciclohexan carboxílico, ácido 8-amino octanoico, bifenilalanina, Boc--t-butoxicarbonilo, bencilo, benzoilo, citrulina, ácido diaminobutírico, pirrolisina, ácido diaminopropiónico, 3,3-difenilalanina, ortonina, citrulina, ácido 1,3-dihidro-2H-isoindolcarboxílico, etilo, Fmoc--fluorenilmetoxicarbonilo, heptanoilo de (CH3--(CH2).sub.5--C(=O)--), hexanoilo de (CH3--(CH2)4--C(=O)-), homoarginina, homocisteína, homolisina, homofenilalanina, homoserina, metilo, sulfóxido de metionina, sulfona de metionina, norvalina (NVA), fenilglicina, propilo, isopropilo, sarcosina (SAR), ter-butilalanina, y benciloxicarbonilo.

Un aminoácido simple, que incluye estereoisómeros y modificaciones de aminoácidos de proteína de origen natural, aminoácidos sin proteína, aminoácidos post-translacionalmente modificados, aminoácidos enzimáticamente sintetizados, aminoácidos que no son de origen natural que incluyen aminoácidos derivatizados, un aminoácido alfa, alfa disustituido derivado de cualquiera de lo anterior (es decir, un aminoácido alfa, alfa disustituido , en donde al menos una cadena lateral es la misma que aquella del residuo del cual

se deriva), un beta-aminoácido derivado de cualquiera de lo anterior (es decir, un beta-aminoácido con la presencia de un beta-carbono o de otra forma el mismo como el residuo del cual se deriva) etc., que incluye todo lo anterior pueden denominarse en la presente como un "residuo". Los sustituyentes adecuados, además de la porción de cadena lateral del alfa-aminoácido, incluyen alquilo lineal o ramificado C1 a C6. Aib es un ejemplo de un aminoácido alfa, alfa disustituido. Aunque los aminoácidos alfa, alfa disustituidos pueden denominarse para utilizar referencias L y D isoméricas convencionales, se entenderá que tales referencias son para conveniencia, y que donde los sustituyentes en la posición alfa son diferentes, tal aminoácido puede denominarse intercambiablemente como un aminoácido alfa, alfa disustituido derivado de L- o D-isómero, cuando sea apropiado, de un residuo con la porción de cadena lateral de aminoácido diseñada. Por lo tanto, el ácido (S)-2-Amino-2-metil-hexanoico puede denominarse ya sea como un aminoácido alfa, alfa disustituido derivado de L-Nle (norleucina) o como un aminoácido alfa, alfa disustituido derivado de D-Ala. Similarmente, Aib puede denominarse como un aminoácido alfa, alfa disustituido derivado de Ala. Siempre que se proporciona un aminoácido alfa, alfa disustituido, se entenderá que incluye todas las configuraciones (R) y (S) de los mismos.

Un "aminoácido N-sustituido" incluye cualquier aminoácido en donde una porción de cadena lateral de aminoácido se enlaza covalentemente al grupo amino de estructura principal, opcionalmente donde no existen sustituyentes distintos de H en la posición alfa-carbono. La sarcosina es un ejemplo de un aminoácido N-sustituido. A modo de ejemplo, la sarcosina puede denominarse como un derivado aminoácido N-sustituido de Ala, en el que la porción de cadena lateral de aminoácido de sarcosina y Ala es la misma, es decir, metilo.

Modificaciones covalentes de las secuencias de péptidos de la invención, que incluyen subsecuencias, variantes y formas modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas en la presente (por ejemplo, las secuencias listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1), se incluyen en la invención. Un tipo de modificación covalente incluye hacer reaccionar los residuos de aminoácidos objetivos con un agente de derivación orgánica que es capaz de reaccionar con las cadenas laterales seleccionadas o los residuos N- o C-terminales del péptido. La derivatización con agentes bifuncionales es útil, por ejemplo, para la reticulación del péptido a matriz o superficie de soporte insoluble en agua para su uso en el método para purificar anticuerpos anti-péptido, y viceversa. Los agentes de reticulación comúnmente utilizados incluyen, por ejemplo, 1,1-bis(diazoacetil)-2-

feniletano, glutaraldehído, ésteres N-hidroxisuccinida, por ejemplo, ésteres con ácido 4-acidosalicílico, imidoésteres homobifuncionales, que incluyen ésteres disuccinimidilo tales como 3,3'-ditiobis(succinimidilpropionato), maleimidas funcionales tales como bis-N-maleimido-1,8-octano y agentes tales como metilo-3-[(p-acidofenil)ditio]propioimidato.

Otras modificaciones incluyen deamidación de residuos glutaminilo y asparaginilo para los residuos glutamilo y aspartilo correspondientes, respectivamente, la hidroxilación de prolina y lisina, fosforilación de los grupos hidroxilo de los residuos serilo o treonilo, metilación de los grupos alfa-amino de las cadenas laterales lisina, arginina, e histidina (T. E. Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties, W.H. Freeman & Co., San Francisco, pp. 79-86 (1983)), la acetilación de la amina N-terminal, amidación de cualquier grupo carboxilo C-terminal, etc.

Las secuencias de péptidos ejemplificadas, y subsecuencias, variantes y formas modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas en la presente (por ejemplo, secuencias listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1), también pueden incluir alteraciones de la estructura principal para estabilidad, derivados, y peptidomiméticos. El término "peptidomimético" incluye una molécula que es una imitación de un residuo (denominada como "mimético"), que

incluye pero no se limita a moléculas de núcleo piperazina, moléculas de núcleo ceto-piperazina y moléculas de núcleo diazepina. A menos que se especifique lo contrario, un aminoácido mimético de una secuencia de péptidos de la invención incluye ambos de un grupo carboxilo y grupo amino, y un grupo que corresponde a una cadena lateral de aminoácido, o en el caso de un mimético de Glicina, cadena lateral distinta de hidrógeno.

A modo de ejemplo, esto puede incluir compuestos que imiten los estéricos, distribución de carga de superficie, polaridad, etc., de un aminoácido de origen natural, aunque no necesita ser un aminoácido, lo cual podría impartir estabilidad en el sistema biológico. Por ejemplo, la Prolina puede sustituirse por otras lactamas o lactonas de tamaño y sustitución adecuados; la Leucina puede sustituirse por un alquilcetona, amida N-sustituida, así como también variaciones en la longitud de cadena lateral de aminoácido utilizando alquilo, alquenilo u otros sustituyentes, otros pueden ser aparentes para los técnicos especializados. El elemento esencial para hacer tales sustituciones es proporcionar una molécula de aproximadamente el mismo tamaño y carga y configuración como el residuo utilizado para diseñar la molécula. El refinamiento de estas modificaciones se hará al analizar los compuestos en un ensayo funcional (por ejemplo, disminución de glucosa) u otro ensayo, y

comparar la relación de estructura-actividad. Tales métodos se encuentran dentro del alcance del trabajo del técnico especializado en el desarrollo de química medicinal y fármacos.

Otro tipo de modificación de las secuencias de péptidos de la invención, que incluye subsecuencias, variantes de secuencia y formas modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas (que incluyen los péptidos listados en las Tablas 1-8 y la Figura 1), es la glicosilación. Como se utiliza en la presente, se denomina ampliación "glicosilación" a la presencia, adición o conexión de una o más porciones de azúcar (por ejemplo, carbohidratos) a las proteínas, lípidos o u otras moléculas orgánicas. El uso del término "diglicosilación" en la presente se pretende generalmente para significar la remoción o eliminación de una o más porciones de azúcar (por ejemplo, carbohidratos). Además, la frase incluye cambios cualitativos en la glicosilación de las proteínas nativas que implican un cambio en el tipo y proporciones (cantidad) de diversas porciones de azúcar (por ejemplo, carbohidratos) presentes.

La glicosilación puede lograrse por la modificación de un residuo aminoácido, o al agregar uno o más sitios de glicosilación que pueden o no estar presentes en la secuencia nativa. Por ejemplo, de carácter no glicosilado puede sustituirse por un residuo que puede glicosilarse. La adición

de sitios de glicosilación puede lograrse al alterar la secuencia de aminoácidos. La alteración a la secuencia de péptidos puede hacerse, por ejemplo, por la adición de, o sustitución por, uno o más residuos de serina o treonina (para sitios de glicosilación O-enlazados) o residuos asparagina (para sitios de glicosilación N-enlazados). Las estructuras de oligosacáridos N-enlazados y O-enlazados y los residuos de azúcar encontrados en cada tipo pueden ser diferentes. Un tipo de azúcar que se encuentra comúnmente en ambos es el ácido N-acetilneuramínico (de aquí en adelante denominado como ácido siálico). El ácido siálico es usualmente el residuo terminal de ambos oligosacáridos N-enlazados y O-enlazados y, por virtud de su carga negativa, pueden conferir propiedades acídicas a la glicoproteína.

Las secuencias de péptidos de la invención pueden alterarse opcionalmente a través de cambios en el nivel de nucleótido (por ejemplo, ADN), particularmente al mutar el ADN que codifica el péptido en bases preseleccionadas tales como codones se generan de manera que se trasladarán hacia los aminoácidos deseados. Otros medios para incrementar el número de porciones de carbohidrato sobre el péptido es por el acoplamiento químico o enzimático de glicósidos en el polipéptido (véase, por ejemplo, en WO 87/05330). Puede lograrse la desglicosilación al remover el sitio de glicosilación subyacente, la supresión de glicosilación por

medios químicos y/o enzimáticos, o por la sustitución de codones que codifican los residuos de aminoácidos que se encuentran glicosilados. Se conocen técnicas de desglicosilación química y escisión enzimática de porciones de carbohidrato en polipéptidos que pueden lograrse por el uso de una variedad de endo- y exo-glicosidasas.

Diversas líneas celulares pueden utilizarse para producir proteínas que se encuentran glicosiladas. Un ejemplo no limitante es células reductasa de Ovario de Hámster Chino (CHO) deficiente Dihidrofolato reductasa (DHFR), que son una célula huésped comúnmente utilizada para la producción de proteínas recombinantes. Estas células no expresan la enzima beta-galactosida de alfa-2,6-sialiltransferasa y por lo tanto no agregan ácido siálico en el ligamento alfa-2,6 a los oligosacáridos N-enlazados de glicoproteínas producidas en estas células.

Otro tipo de modificación es conjugar (por ejemplo, enlazar) uno o más componentes adicionales o moléculas en N- y/o C-término de una secuencia de péptidos de la invención, tal como otra proteína (por ejemplo, una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos heteróloga a la proteína objeto), o una molécula portadora. Por lo tanto, la secuencia de péptido ejemplar puede conjugarse con otro componente o molécula.

En ciertas modalidades, el amino- o carboxi-término

de una secuencia de péptidos de la invención puede fusionarse con una región Fc de inmunoglobulina (por ejemplo, Fc humana) para formar un conjugado de fusión (o molécula de fusión). Los conjugados de fusión Fc pueden incrementar la vida media de los productos biofarmacéuticos, y por lo tanto el producto biofarmacéutico puede tener actividad prolongada o requerir menos administración frecuente. Se enlaza al receptor Fc neonatal (FcRn) en células endoteliales que recubren los vasos sanguíneos, y, tras la unión, la molécula de fusión Fc se protege de la degradación y se vuelve a liberar en la circulación manteniendo a la molécula en una mayor circulación. Este enlace Fc se cree que es mecanismo por el cual el IgG endógeno conserva su vida medio de plasma prolongada. Los fármacos de Fc bien conocidos y validados consisten de dos copias de un producto biofarmacéutico enlazado a la región Fc de un anticuerpo para mejorar la farmacocinética, solubilidad y eficiencia de producción. Más recientemente la tecnología de fusión de Fc enlaza una copia simple de un producto biofarmacéutico a la región Fc de un anticuerpo para optimizar las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas del producto biofarmacéutico cuando se compara con los conjugados de fusión Fc tradicionales.

Una modificación conjugada puede utilizarse para producir una secuencia de péptidos que retiene la actividad con una función adicional o complementaria o actividad de la

segunda molécula. Por ejemplo, una secuencia de péptidos puede conjugarse a una molécula, por ejemplo, para facilitar la solubilidad, almacenar, vida media *in vivo* o en anaquel o estabilidad, reducción en inmunogenicidad, retardo o liberación controlada *in vivo*, etc. Otras funciones o actividades incluyen un conjugado que reduce la toxicidad en relación con la secuencia de péptidos no conjugada, un conjugado que se dirige a un tipo de célula u organismo más eficientemente que una secuencia de péptidos no conjugada, o un fármaco para contrarrestar adicionalmente las causas o efectos asociados con un trastorno o enfermedad como se establece en la presente (por ejemplo, diabetes).

La efectividad clínica de la terapéutica de la proteína puede limitarse por una corta vida media en plasma y susceptibilidad a la degradación. Estudios de diversas proteínas terapéuticas han mostrado que diversas modificaciones, incluyendo la conjugación o enlace a la secuencia de péptidos a cualquiera de una variedad de polímeros no proteináceos, por ejemplo, polietilenglicol (PEG), polipropilenglicol, o polioxialquilenos (véase, por ejemplo, típicamente mediante una porción de enlace covalentemente unida a ambos de la proteína y el polímero no proteináceo (por ejemplo, una PEG) puede prolongar la vida media. Tales biomoléculas PEG conjugadas se ha mostrado que poseen propiedades clínicamente útiles, incluyendo mejor

estabilidad física y térmica, protección contra la susceptibilidad a la degradación enzimática, solubilidad incrementada, vida media en circulación in vivo más prolongada y supresión disminuida, inmunogenicidad y antigenicidad reducidas, y toxicidad reducida.

Los PEG adecuados para la conjugación a una secuencia de péptidos de la invención generalmente es soluble en agua a temperatura ambiente y tienen la fórmula general $R(O-CH_2-CH_2)_nO-R$, en donde R es hidrógeno o un grupo protector tal como un alquilo o un grupo alcanol, y en donde n es un número entero de 1 a 1000. Cuando R es un grupo protector, tiene generalmente de 1 a 8 carbonos. El PEG conjugado a la secuencia de péptidos puede ser lineal o ramificado. Los derivados de PEG ramificados, los "PEG de estrella" y los PEG de múltiples brazos se incluyen en la invención. Un peso molecular del PEG utilizado en la invención no se restringe a ningún margen particular, aunque ciertas modalidades tienen un peso molecular entre 500 y 20,000 aunque otras modalidades tienen un peso molecular entre 4,000 y 10,000.

La invención incluye composiciones de conjugados en donde los PEG tienen valores "n" diferentes y por lo tanto los diversos PEG diferentes se encuentran presentes en relaciones específicas. Por ejemplo, algunas composiciones comprenden una mezcla de conjugados en donde n=1, 2, 3 y 4. En algunas composiciones, el porcentaje de conjugados en

donde n=1 es 18-25%, el porcentaje de conjugados en donde n=2 es 50-66%, el porcentaje de conjugados en donde n=3 es 12-16%, y el porcentaje de conjugados en donde n=4 es hasta 5%. Estas composiciones pueden producirse por las condiciones de reacción y métodos de purificación conocidos en la técnica.

PEG puede enlazar directa o indirectamente (por ejemplo, a través de un intermediario) a las secuencias de péptidos de la invención. Por ejemplo, en una modalidad, enlace PEG mediante un grupo reactivo terminal (un "espaciador". El espaciador, es, por ejemplo, un grupo reactivo terminal que media un enlace entre los grupos amino o carboxilo libres de una o más de las secuencias de péptidos y polietilenglicol. El PEG que tiene el espaciador el cual puede unirse al grupo amino libre incluye polietilenglicol N-hidroxisuccinilimida el cual puede prepararse al activar el éster de ácido succínico de polietilenglicol con N-hidroxisuccinilimida. Otro polietilenglicol activado el cual puede enlazarse al grupo amino libre es 2,4-bis(O-metoxipolietilenglicol)-6-cloro-s-triazina el cual puede prepararse al hacer reaccionar el monometiléter de polietilenglicol con cloro de cianuro. El polietilenglicol activado el cual se enlaza al grupo carboxilo libre incluye polioxietilendiamina.

La conjugación de una o más de secuencias de péptidos de la invención para PEG que tiene un espaciador

puede llevarse a cabo por diversos métodos convencionales. Por ejemplo, la reacción de conjugación puede llevarse a cabo en solución en un pH de desde 5 a 10, a temperatura de 4°C a temperatura ambiente, durante 30 minutos a 20 horas, utilizando una reacción de reactivo a proteína de 4:1 a 30:1. Las condiciones de reacción pueden seleccionarse para dirigir la reacción hacia la producción predominantemente de un grado deseado de sustitución. En general, la baja temperatura, bajo pH (por ejemplo, pH=5), y el corto tiempo de reacción tienden a disminuir el número de PEG conectados, mientras que la alta temperatura, neutro a alto pH (por ejemplo, pH>7), y un mayor tiempo de reacción tienden a incrementar el número de los PEG conectados. Diversos métodos conocidos en la técnica pueden utilizarse para terminar la reacción. En algunas modalidades la reacción se termina al acidificar la mezcla de reacción y la congelación a por ejemplo, -20°C.

Las secuencias de péptidos de la invención que incluyen subsecuencias, variantes de secuencia y formas modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas (que incluyen los péptidos listados en las Tablas 1-8 y la Figura 1), además incluyen la conjugación para macromoléculas grandes, altamente metabolizadas tales como proteínas; polisacáridos, tales como sefarosa, agarosa, celulosa, cuentas de celulosa; aminoácidos poliméricos tales como ácido poliglutámico, polilisina; copolímeros de aminoácidos;

partículas de virus inactivado; toxinas bacterianas inactivadas tales como toxoides de difteria, tétanos, cólera, moléculas de leucotoxina; bacterias inactivadas; y células dendríticas. Tales formas conjugadas, si se desea, pueden utilizarse para producir anticuerpos contra secuencias de péptidos de la invención.

Los componentes adecuados adicionales y moléculas para la conjugación incluyen, por ejemplo, tiroglobulina; albúminas tales como albúmina de suero humano (HSA); toxoide de tétano; toxoide de Difteria; poliaminoácidos tales como poli(D-lisina:ácido D-glutámico); polipéptidos de VP6 de rotavirus; hemaglutinina de virus de influenza, nucleoproteína de virus de influenza; Hemocianina de Lapa Californiana (KLH); y proteína del núcleo de virus de hepatitis B y antígeno de superficie; o cualquier combinación de los anteriores.

La fusión de albúmina a una secuencia de péptidos de la invención puede por ejemplo, lograrse por manipulación genética, de tal manera que el ADN que codifica para HSA (albúmina de suero humano), o un fragmento del mismo, se une al ADN que codifica para una secuencia de péptidos. Por lo tanto, después de esto, puede transformarse o transfectarse un huésped adecuado con la secuencia de nucleótido fusionado en la forma de por ejemplo, un plásmido adecuado, para expresar un polipéptido de fusión. La expresión puede

efectuarse *in vitro* a partir de, por ejemplo, células procarióticas o eucarióticas, o in vivo a partir de por ejemplo, un organismo transgénico. En algunas modalidades de la invención, la expresión de la proteína de fusión se realiza en líneas celulares de mamífero, por ejemplo, líneas celulares de CHO.

Medios adicionales para proteínas objetivo genéticamente fusionadas o péptidos para albúmina incluyen una tecnología conocida como Albufuse® (Novozymes Biopharma A/S; Dinamarca), y las secuencias de péptidos terapéuticas conjugadas frecuentemente se vuelven mucho más efectivas con mejor absorción en el cuerpo. La tecnología se ha utilizado comercialmente para producir Albuferon® (Human Genome Sciences), una combinación de albúmina e interferón α-2B utilizado para tratar infección de hepatitis C.

Otra modalidad implica el uso de uno o más anticuerpos de dominio humano (dAb). Los dAb son las unidades de enlace funcionales más pequeñas de los anticuerpos humanos (IgG) y tienen estabilidad favorable y características de solubilidad. La tecnología implica un conjugado de dAb(s) a HSA (por lo que forma un "AlbudAb"; véase, por ejemplo, EP1517921B, WO2005/118642 y WO2006/051288) y una molécula de interés (por ejemplo, una secuencia de péptidos de la invención). Los AlbudAb a menudo son más pequeños y más fáciles de fabricar en sistemas de expresión microbiana, tal

como bacterias o levaduras, que las tecnologías actuales utilizadas para extender la vida media del suero de los péptidos. Cuando HSA tiene una vida media de alrededor de tres meses, la molécula conjugada resultante mejora la vida media. El uso de la tecnología de dAb también puede mejorar la eficacia de la molécula de interés.

Componentes y moléculas adecuados adicionales para la conjugación incluyen aquellos adecuados para aislamiento o purificación. Ejemplos no limitantes particulares incluyen moléculas de enlace, tales como biotina (par de enlace específico de biotina-avidina), un anticuerpo, un receptor, un ligando, una lectina, o moléculas que comprenden un soporte sólido, que incluyen por ejemplo, cuentas de plástico o poliestireno, placas o cuentas, cuentas magnéticas, cintas de prueba y membranas.

Los métodos de purificación tales como la cromatografía de intercambio catiónico pueden utilizarse para conjugar por separado por diferencias de carga, lo cual separa efectivamente los conjugados en sus diversos pesos moleculares. Por ejemplo, la columna de intercambio catiónico puede cargarse y después lavarse con ~20 mM acetato de sodio, pH ~4, y después eluirse con un gradiente de NaCl lineal (0M a 0.5M) conjugado a un pH de 3 a 5.5, de preferencia a pH ~4.5. El contenido de las fracciones obtenidas por la cromatografía de intercambio catiónico puede identificarse

por el peso molecular utilizando los métodos convencionales, por ejemplo, espectroscopía de masa, SDS-PAGE, u otros métodos conocidos para separar las entidades moleculares por peso molecular. Se identifica entonces por consiguiente una fracción que contiene el conjugado que tiene el número deseado de los PEG conectados, purificados, libres de secuencias de proteína no modificadas y de conjugados que tienen otros números de los PEG conectados.

En aún otras modalidades, la secuencia de péptidos de la invención se enlaza a un agente químico (por ejemplo, un agente de inmunotoxina o quimioterapéutico), que incluye, pero no se limita a, agente citotóxico, que incluye taxol, citocalasina B, gramicidina D, mitomicina, etopósido, tenopósido, vincristina, vinblastina, colchicina, doxorubicina, daunorubicina, y análogos u homólogos de los mismos. Otros agentes químicos incluyen, por ejemplo, antimetabolitos (por ejemplo, metotrexato, 6-mercaptopurina, 6- tioguanina, citarabina, 5-fluorouracil decarbazina); agentes de alquilación (por ejemplo, mecloretamina, carmustina y lomustina, ciclofosfamida, busulfán, dibromomanitol, estreptozotocina, mitomicina C, y cisplatina); antibióticos (por ejemplo, bleomicina); y agentes anti-mitóticos (por ejemplo, vincristina y vinblastina). Las citotoxinas pueden conjugarse en un péptido de la invención utilizando tecnología de enlazador conocida

en el arte y descrita en la presente.

Los componentes y moléculas adecuados adicionales para conjugación incluyen aquellos adecuados para la detección en un ensayo. Ejemplos no limitantes particulares incluyen etiquetas detectables, tales como radioisótopos (por ejemplo, ^{125}I; ^{35}S, ^{32}P; ^{33}P), una enzima que genera un producto detectable (por ejemplo, luciferasa, β-galactosidasa, peroxidasa de rábano y fosfatasa alcalina), una proteína fluorescente, una proteína cromogénica, tinte (por ejemplo, isotiocianato de fluoresceína); metales que emiten fluorescencia (por ejemplo, ^{152}Eu); compuestos quimioluminiscentes (por ejemplo, luminol y sales de acridinio); compuestos bioluminescentes (por ejemplo, luciferina); y proteínas fluorescentes. Las etiquetas indirectas incluyen anticuerpos etiquetados o detectables que enlazan una secuencia de péptidos, en donde el anticuerpo puede detectarse.

En ciertas modalidades, una secuencia de péptidos de la invención se conjuga a un isótopo radioactivo para generar un radiofarmacéutico citotóxico (radioinmunoconjugados) útil como un agente de diagnóstico o terapéutico. Ejemplos de tales isótopos radioactivos incluyen, pero no se limitan a, yodo^{13} indio^{11}; itrio^{90} y lutecio^{177}. Métodos para preparar radioinmunoconjugados se conocen por el técnico experimentado. Ejemplos de

radioinmunoconjugados que se encuentran comercialmente disponibles incluye ibritumomab, tiuxetán, y tositumomab.

Otros medios y métodos incluidos en la invención para prolongar la vida media de circulación, incrementar la estabilidad, reducir el espacio o alterar la inmunogenicidad o alergenicidad de una secuencia de péptidos de la invención implica la modificación de la secuencia de péptidos por hecilación, la cual utiliza derivados de almidón hidroxietilo enlazados a otras moléculas para modificar las características de la molécula. Varios aspectos de hecilación se describen en, por ejemplo, las Solicitudes de Patente de los Estados Unidos Nos. 2007/0134197 y 2006/0258607.

Cualquiera de los componentes y moléculas anteriores utilizadas para modificar las secuencias de péptidos de la invención pueden conjugarse opcionalmente mediante un enlazador. Los enlazadores adecuados incluyen "enlazadores flexibles" que son generalmente de longitud suficiente para permitir algún movimiento entre las secuencias de péptidos modificadas y los componentes y moléculas enlazados. Las moléculas enlazadoras se encuentran generalmente alrededor de 6-50 átomos de longitud. Las moléculas enlazadoras también pueden ser, por ejemplo, arilo acetileno, oligómeros de etilenglicol que contienen 2-10 unidades monoméricas, diaminas, diacidas, aminoácidos, o combinaciones de los mismos. Los enlazadores adecuados pueden

seleccionarse fácilmente y pueden ser de cualquier longitud adecuada, tal como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 10-20, 20-30, 30-50 aminoácidos (por ejemplo, Gly).

Los enlazadores flexibles ejemplares incluyen polímeros de glicina $(G)_n$, polímeros de glicina-serina (por ejemplo, $(GS)_n$, $GSGGS_n$ y $GGGS_n$, en donde n es un número entero de al menos uno), polímeros de glicina-alanina, polímeros de alanina-serina, y otros enlazadores flexibles. Los polímeros de glicina y glicina-serina no se encuentran relativamente estructurados, y por lo tanto pueden servir como un amarre neutral entre los. Los enlazadores flexibles ejemplares incluyen, pero no se limitan a GGSG, GGSGG, GSGSG, GSGGG, GGGSG, y GSSSG.

Las secuencias de péptidos de la invención, que incluyen las variantes FGF19 y FGF21 y subsecuencias y las fusiones y quimeras FGF19/FGF21 listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1, así como también subsecuencias, variantes de secuencia y formas modificadas de las secuencias listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1 tienen una o más actividades como se establece en la presente. Un ejemplo de una actividad es la actividad de disminución de glucosa. Otro ejemplo de una actividad es la estimulación o formación reducida de carcinoma hepatocelular (HCC), por ejemplo, cuando se compara con FGF19. Un ejemplo adicional de una actividad es el lípido disminuido o reducido (por ejemplo, triglicéridos,

colesterol, sin HDL) o HDL que incrementa la actividad, por ejemplo, cuando se compara con FGF21. Un ejemplo adicional de una actividad es una masa muscular magra inferior o reducida que reduce la actividad, por ejemplo, cuando se compara con FGF21. Aún otro ejemplo de una actividad se une al receptor-4 del factor de crecimiento de fibroblasto (FGFR4), o activar FGFR4, por ejemplo, las secuencias de péptidos que se enlazan a FGFR4 con una afinidad comparable a o mayor que la afinidad de enlace FGF19 para FGFR4; y las secuencias de péptidos que activan FGFR4 a un grado o cantidad comparable a o mayor que FGF19 activa FGFR4. Aún ejemplos adicionales de actividades incluyen la regulación descendente o reducción de la expresión del gen aldo-ceto reductasa, por ejemplo, comparado con FGF19; regulación ascendente o incrementada de la expresión del gen Slcla2 comparado con FGF21.

Más particularmente, las secuencias de péptidos de la invención, que incluyen las variantes FGF19 y FGF21 y las subsecuencias y las fusiones y quimeras FGF19/FGF21 listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1, así como también las subsecuencias, variantes y formas modificadas de las secuencias listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1 incluyen aquellas con las siguientes actividades: secuencias de péptidos que tienen formación de carcinoma hepatocelular reducido (HCC) comparado con FGF19, o una secuencia variante de FGF19 que tiene cualquiera de GQV, GDI, WGPI, WGDPV, WGDI,

GDPI, GPI, WGQPI, WGAPI, AGDPI, WADPI, WGDAI, WGDPA, WDPI, WGDI, WGDP o FGDPI sustituido para la secuencia de WGDPI en los aminoácidos 16-20 de FGF19; secuencias de péptidos que tienen mayor actividad de disminución de glucosa comparados con FGF19, o secuencia variante de FGF19 que tiene cualquiera de GQV, GDI, WGPI, WGDPV, WGDI, GDPI, GPI, WGQPI, WGAPI, AGDPI, WADPI, WGDAI, WGDPA, WDPI, WGDI, WGDP o FGDPI sustituido para la secuencia de WGDPI en los aminoácidos 16-20 de FGF19; secuencias de péptidos que tienen menos actividad de incremento de lípidos (por ejemplo, menos triglicéridos, colesterol, sin HDL) o más HDL que incrementa la actividad comparada con FGF19, o una secuencia variante de FGF19 que tiene cualquiera de GQV, GDI, WGPI, WGDPV, WGDI, GDPI, GPI, WGQPI, WGAPI, AGDPI, WADPI, WGDAI, WGDPA, WDPI, WGDI, WGDP o FGDPI sustituido para la secuencia de WGDPI en los aminoácidos 16-20 de FGF19; y secuencias de péptidos que tienen menos actividad que reduce la masa magra cuando se compara con FGF21.

Más particularmente, las secuencias de péptidos de la invención, que incluyen las variantes FGF19 y FGF21 y subsecuencias y las fusiones y quimeras FGF19/FGF21 listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1, así como también subsecuencias, variantes y formas modificadas de las secuencias listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1 incluyen aquellas con las siguientes actividades: secuencias de

péptidos que enlazan al receptor-4 del factor de crecimiento de fibroblasto (FGFR4), o activa FGFR4, tal como secuencias de péptidos que enlazan a FGFR4 con una afinidad comparable a o mayor que la afinidad de enlace FGF19 para FGFR4; las secuencias de péptidos que activan FGFR4 a un grado o cantidad comparable a o mayor que FGF19 activa FGFR4; las secuencias de péptidos que regulan descendentemente o reducen la expresión del gen aldo-ceto reductasa, por ejemplo, comparados con FGF19; y las secuencias de péptidos que regulan ascendentemente o incrementan la expresión del gen del miembro 2 de la familia 1 de portador soluble (Slcla2) cuando se compara con FGF21.

Actividades tales como, por ejemplo, formación carcinoma hepatocelular (HCC) o tumorigénesis, actividad de disminución de glucosa, actividad de incremento de lípidos, o actividad de reducción de masa magra pueden comprobarse en un animal, tal como un ratón *db/db*. Las mediciones de enlace de FGFR4 o activación de FGFR4 pueden comprobarse por ensayos descritos en la presente (véase, por ejemplo, Ejemplo 1) o conocidos por los técnicos especializados.

El término "unión", o "unir", cuando se utiliza con referencia a una secuencia de péptidos, significa que la secuencia de péptidos interactúa en el nivel molecular. Por lo tanto, una secuencia de péptidos que enlaza a FGFR4 se une a toda o parte de la secuencia FGFR4. La unión específica y

selectiva puede distinguirse de la unión no específica utilizando ensayos conocidos en la técnica (por ejemplo, unión competitiva, inmunoprecipitación, ELISA, citometría de flujo, transferencia Western).

Los péptidos y peptidomiméticos pueden producirse y aislarse utilizando métodos conocidos en el arte. Los péptidos pueden sintetizarse, por completo o en parte, utilizando métodos químicos (véase, por ejemplo, Caruthers (1980). *Nucleic Acids Res. Symp. Ser.* 215; Horn (1980); and Banga, A.K., Therapeutic Peptides and Proteins, Formulation, Processing y Delivery Systems (1995) Technomic Publishing Co., Lancaster, PA). La síntesis de péptido puede realizarse utilizando diversas técnicas de fase sólida (véase, por ejemplo, Roberge *Science* 269:202 (1995); Merrifield, *Methods Enzymol.* 289:3 (1997)) y pueden lograrse síntesis automatizadas, por ejemplo, utilizando el Sintetizador de Péptidos ABI 431A (Perkin Elmer) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los péptidos y los péptidos miméticos también pueden sintetizarse utilizando metodologías combinatorias. Los residuos sintéticos y polipéptidos que incorporan miméticos pueden sintetizarse utilizando una variedad de procedimientos y metodologías conocidos en el arte (véase, por ejemplo, Organic Syntheses Collective Volumes, Gilman, *et al.* (Eds) John Wiley & Sons, Inc., NY). Los péptidos modificados pueden producirse por los métodos de

modificación química (véase, por ejemplo, Belousov, *Nucleic Acids Res.* 25:3440 (1997); Frenkel, *Free Radic. Biol. Med.* 19:373 (1995); y Blommers, *Biochemistry* 33:7886 (1994)). Las variaciones de secuencia de péptidos, derivados, sustituciones y modificaciones también pueden hacerse utilizando métodos tales como mutagénesis mediada por oligonucleótido (sitio dirigido), exploración de alanina, y mutagénesis a base de PCR. La mutagénesis en sitio dirigida (Carter et al., *Nucl. Acids Res.*, 13:4331 (1986); Zoller et al., *Nucl. Acids Res.* 10:6487 (1987)), la mutagénesis de casete (Wells et al., *Gene* 34:315 (1985)), la mutagénesis de selección de restricción (Wells et al., Philos. *Trans. R. Soc. London Ser* A 317:415 (1986)) y otras técnicas pueden realizarse en ADN clonado para producir secuencias de péptidos de la invención, variantes, fusiones y quimeras, y variaciones, derivados, sustituciones y modificaciones de los mismos.

Una secuencia de péptidos "sintetizada" o "fabricada" es un péptido elaborado por cualquier método que implica la manipulación por la mano del hombre. Tales métodos incluyen pero no se limitan a los antes mencionados, tales como síntesis química, tecnología de ADN recombinante, bioquímica o fragmentación enzimática de moléculas más grandes, y combinaciones de lo anterior.

Las secuencias de péptidos de la invención incluyen

subsecuencias, variantes de secuencia y formas modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas (por ejemplo, secuencias listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1), también pueden modificarse para formar una molécula quimérica. De acuerdo con la invención, se proporcionan secuencias de péptidos que incluyen un dominio heterólogo. Tales dominios pueden agregarse al término amino o al término carboxilo de la secuencia de péptidos. Los dominios heterólogos también pueden colocarse dentro de la secuencia de péptidos, y/o alternativamente anclarse por FGF19 y/o FGF21 derivados de las secuencias de aminoácidos.

El término "péptido" también incluye dímeros o multímeros (oligómeros) de péptidos. De acuerdo con la invención, también se proporcionan dímeros o multímeros (oligómeros) de las secuencias de péptidos ejemplificadas así como también subsecuencias, variantes y formas modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas (por ejemplo, secuencias listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1).

La invención proporciona además moléculas de ácido nucleico que codifican secuencias de péptidos de la invención, que incluyen subsecuencias, variantes de secuencia y formas modificadas de las secuencias listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1, y vectores que incluyen ácido nucleico que codifica el péptido. Por consiguiente, los "ácidos nucleicos" incluyen aquellos que codifican las secuencias de péptidos

ejemplificadas descritas en la presente, así como también aquellas que codifican las subsecuencias funcionales, variantes de secuencia y formas modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas, siempre que lo anterior retenga al menos actividad o función detectable o medible. Por ejemplo, una subsecuencia, una variante o forma modificada de una secuencia de péptidos ejemplificada descrita en la presente (por ejemplo, una secuencia listada en las Tablas 1-8 y la Figura 1) que retiene alguna habilidad para disminuir o reducir la glucosa, proporciona homeostasis de glucosa normal, o reduce las condiciones histopatológicas asociadas con hiperglicemia crónica o aguda *in vivo*, etc.

El ácido nucleico, el cual también se refiere en la presente como un gen, polinucleótido, secuencia de nucleótido, cebador, oligonucleótido o la sonda se refiere a polímeros que contienen purina y pirimidina natural o modificada de cualquier longitud, ya sea poliribonucleótidos o polidesoxiribonucleótidos o mezclas de poliribo-polideoxiribo nucleótidos y formas α-anoméricas de los mismos. Los dos o más polímeros que contienen purina y pirimidina se unen típicamente por un enlace fosfoéster o análogo del mismo. Los términos pueden utilizarse intercambiablemente para referirse a todas las formas de ácido nucleico, que incluyen ácido desoxiribonucleico (ADN) y ácido ribonucleico (ARN). Los ácidos nucleicos pueden ser de

una sola, doble o triple hebra, lineal o circular. Los ácidos nucleicos incluyen ADN genómico y ADNc. El ácido nucleico de ARN puede ser ARNm empalmado o no empalmado, ARNr, ARNt o antisentido. Los ácidos nucleicos incluyen de origen natural, sintéticos, así como también análogos y derivados de nucleótido.

Como resultado de la degeneración del código genético, las moléculas de ácido nucleico incluyen las secuencias degeneradas con respecto a las moléculas de ácido nucleico que codifican las secuencias de péptidos de la invención. Por lo tanto, secuencias de ácido nucleico degenerados que codifican las secuencias de péptidos, que incluyen subsecuencias, variantes y formas modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas en la presente (por ejemplo, secuencias listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1), se proporcionan. El término "complementario", cuando se utiliza con referencia a la secuencia de ácido nucleico, significa que las regiones de referencia son 100% complementarias, es decir, muestran 100% de pares de bases con falta de coincidencias.

El ácido nucleico puede producirse utilizando cualquiera de una variedad de métodos de clonación y síntesis química estándares, y pueden alterarse intencionalmente por mutagénesis sitio dirigida u otras técnicas recombinantes conocidas por alguien con experiencia en el arte. La pureza

de polinucleótidos puede determinarse a través de secuenciación, electroforesis en gel, espectrometría de UV.

Los ácidos nucleicos pueden insertarse en un constructor de ácido nucleico en el cual la expresión del ácido nucleico se ve influenciada o regulada por un "elemento de control de expresión", denominado en la presente como un "casete de expresión". El término "elemento de control de expresión" se refiere a uno o más elementos de secuencia de ácido nucleico que regulan o influencian la expresión de una secuencia de ácido nucleico a la cual se une operativamente. Un elemento de control de expresión puede incluir, como sea apropiado, promotores, mejoradores, terminadores de transcripción, silenciadores génicos, codón de inicio (por ejemplo, ATG) delante del gen que codifica la proteína, etc.

Un elemento de control de expresión enlazado operativamente a una secuencia de ácido nucleico controla la transcripción y, cuando sea apropiado, las translación de la secuencia de ácido nucleico. El término "enlazado operativamente" se refiere a yuxtaposición en donde los componentes denominados se encuentran en una relación que les permite funcionar en su forma pretendida. Típicamente, los elementos de control de expresión se yuxtaponen en los extremos 5′ o 3′ de los genes aunque también pueden ser intrónicos.

Los elementos de control de expresión incluyen

elementos que activan constitutivamente la transcripción, que son inducibles (es decir, requieren una señal externa o estímulo para activación), o desreprimible (es decir, requieren una señal para activar la transcripción; cuando la señal ya no está presente, la transcripción se activa o "desreprime"). También incluidos en los casetes de expresión de la invención son los elementos de control suficientes para hacer a la expresión del gen controlable para tipos de células o tejidos específicos (es decir, elementos de control de tejido específicos). Típicamente, tales elementos se encuentran ubicados corriente arriba o corriente abajo (es decir, 5' y 3') de la secuencia de codificación. Los promotores se colocan generalmente 5' de la secuencia de codificación. Los promotores, producidos por ADN recombinante o técnicas sintéticas, pueden utilizarse para proporcionar una transcripción de los polinucleótidos de la invención. Un "promotor" típicamente significa un elemento de secuencia mínima suficiente para dirigir la transcripción.

Los ácidos nucleicos pueden insertarse en un plásmido para la transformación de célula huésped y para la expresión y/o manipulación genética subsecuente. Un plásmido es un ácido nucleico que puede propagarse establemente en una célula huésped; los plásmidos pueden contener opcionalmente elementos de control de expresión para manejar la expresión del ácido nucleico. Para propósitos de esta invención, un

vector es sinónimo de un plásmido. Los plásmidos y vectores generalmente contienen al menos un origen de replicación para la propagación en una célula y un promotor. Los plásmidos y vectores también pueden incluir un elemento de control de expresión para la expresión en una célula huésped, y por lo tanto son útiles para la expresión y/o manipulación genética de ácidos nucleicos que codifican la secuencia de péptidos, expresar las secuencias de péptidos en células huésped y organismos (por ejemplo, un sujeto en necesidad de tratamiento), o producir las secuencias de péptidos, por ejemplo.

Como se utiliza en la presente, el término "transgen" significa un polinucleótido que se ha introducido en una célula u organismo por artificios. Por ejemplo, una célula que tiene un transgen, el transgen se ha introducido por manipulación genética o "transformación" de la célula. Una célula o progenie de la misma en la cual el transgen se ha introducido se denomina como una "célula transformada" o "transformante". Típicamente, el transgen se incluye en la progenie del transformante o se vuelve parte del organismo que se desarrolla a partir de la célula. Los transgenes pueden insertarse en el ADN cromosomal o mantenerse como un plásmido de auto-replicación, YAC, minicromosoma, o similar.

Los promotores del sistema bacteriano incluyen T7 y promotores inducibles tales como pL de bacteriófagos λ, plac,

ptrp, ptac (promotor de híbrido ptrp-lac) y promotores de respuesta de tetraciclina. Los promotores del sistema de células de insectos incluyen promotores constitutivos o inducibles (por ejemplo, ecdisona). Los promotores constitutivos de célula de mamífero incluyen SV40, RSV, virus de papiloma bovino (BPV) y otros promotores de virus, o promotores inducibles derivados del genoma de células de mamífero (por ejemplo, el promotor de metalotioneína IIA; promotor de choque térmico) o a partir de virus de mamífero (por ejemplo, el promotor tardío de adenovirus; la repetición de terminal larga del virus tumoral de mamífero de ratón inducible). Alternativamente, un genoma retroviral puede modificarse genéticamente para introducir y dirigir la expresión de una secuencia de péptidos en células huésped apropiadas.

Cuando los métodos y usos de la invención incluyen el suministro *in vivo*, los sistemas de expresión adicional incluyen vectores diseñados para uso *in vivo*. Ejemplos no limitantes particulares incluyen vectores adenovirales (Patentes de los Estados Unidos Nos. 5,700,470 y 5,731,172), vectores adeno-asociados (Patente de los E.U. No. 5,604,090), vectores del virus de herpes simple (Patente de los E.U. No. 5,501,979), vectores retrovirales (Patentes de los Estados Unidos Nos. 5,624,820, 5,693,508 y 5,674,703), vectores de BPV (Patente de los E.U. No. 5,719,054), vectores de CMV

(Patente de los E.U. No. 5,561,063) y parvovirus, rotavirus, virus Norwalk vectores lentivirales (véase, por ejemplo, Patente de los E.U. No. 6,013,516). Los vectores incluyen aquellos que suministran genes a las células del tracto intestinal, incluyendo las células madre (Croyle *et al., Gene Ther.* 5:645 (1998); S.J. Henning, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 17:341 (1997), las Patentes de los Estados Unidos Nos. 5,821,235 y 6,110,456). Muchos de estos vectores se han aprobado para estudios humanos.

Los Vectores de levadura incluyen promotores constitutivos e inducibles (véase, por ejemplo, Ausubel et al., En: Current Protocols in Molecular Biology. Vol. 2, Ch. 13, ed., Greene Publish. Assoc. & Wiley Interscience, 1988; Grant et al. *Methods in Enzymology*, 153:516 (1987), eds. Wu & Grossman; Bitter *Methos in Enzymology*, 152:673 (1987), eds. Berger & Kimmel, Acad. Press, N.Y.; y, Strathern et al., The Molecular Biology de the Yeast Saccharomyces (1982) eds. Cold Spring Harbor Press, Vols. I y II). Un promotor de levadura constitutivo tal como ADH o LEU2 o un promotor inducible tal como GAL pueden utilizarse (R. Rothstein En: DNA Cloning. A Practical Approach. Vol.11, Ch. 3, ed. D.M. Glover, IRL Press, Wash., D.C., 1986). Los vectores que facilitan la integración de secuencias de ácido nucleico extrañas en un cromosoma de levadura, mediante recombinación homóloga por ejemplo, se conocen en el arte. Los cromosomas artificiales

de levadura (YAC) se utilizan típicamente cuando los polinucleótidos insertados son demasiado largos para vectores más convencionales (por ejemplo, mayores que alrededor de 12 Kb).

Los vectores de expresión también pueden contener un marcador seleccionable que confiere resistencia a una presión selectiva o marcador identificable (por ejemplo, beta-galactosidasa), por lo que permite a las células tener el vector que se selecciona para crecer y expandirse. Alternativamente, un marcador seleccionable puede estar en un segundo vector que se co-transfecta en una célula huésped con un primer vector que contiene un ácido nucleico que codifica una secuencia de péptidos. Los sistemas de selección incluyen pero no se limitan al gen timidinacinasa del virus de herpes simple (Wigler et al., *Cell* 11 :223 (1977)), el gen fosforibosiltransferasa de hipoxantina-guanina (Szybalska et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA 48:2026 (1962)), y los genes adenina-fosforibosiltransferasa (Lowy et al., *Cell* 22:817 (1980)) pueden emplearse en las células tk, hgprt o aprt, respectivamente. Adicionalmente, la resistencia a antimetabolitos puede utilizarse como la base de selección de *dhfr*, lo cual confiere resistencia metotrexato (O'Hare et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA 78: 1527 (1981)); el gen *gpt* gene, el cual confiere resistencia al ácido micofenólico (Mulligan et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA 78:2072 (1981));

el gen neomicina, el cual confiere resistencia al aminoglicósido G-418 (Colberre-Garapin et al., *J. Mol. Biol.* 150: 1(1981)); *puromicina*; y el gen *higromicina*, que confiere resistencia a higromicina (Santerre et al., *Gene* 30:147 (1984)). Los genes adicionales seleccionables incluyen trpB, los cuales permiten a las células utilizar el indol en lugar de triptófano; hisD, que permite a las células utilizar el histinol en lugar de histidina (Hartman et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA 85:8047 (1988)); y ODC (ornitina decarboxilasa), que confiere resistencia al inhibidor de ornitina decarboxilasa, 2-(difluorometil)-DL-ornitina, DFMO (McConlogue (1987) En: Current Communications en Molecular Biology. Cold Spring Harbor Laboratory).

De acuerdo con la invención, se proporcionan una o más células transformadas proporcionadas (*in vitro, ex vivo e in vivo*) y células huésped que producen una variante o fusión de FGF19 y/o FGF21 como se establece en la presente, en donde la expresión de la variante o fusión de FGF19 y/o FGF21 se confiere por un ácido nucleico que codifica la variante o fusión de FGF19 y/o FGF21. Las células transformadas y huésped que expresan las secuencias de péptidos de la invención típicamente incluyen un ácido nucleico que codifica la secuencia de péptidos de la invención. En una modalidad, una célula transformada o huésped es una célula procariótica. En otra modalidad, una célula transformada o huésped es una

célula eucariótica. En diversos aspectos, la célula eucariótica es una célula de levadura o de mamífero (por ejemplo, humano, primate, etc.).

Como se utiliza en la presente, una célula "transformada" o "huésped" es una célula en la cual se introduce un ácido nucleico que puede propagarse y/o transcribirse por la expresión de una secuencia de péptidos codificada. El término también incluye cualquier progenie o subclones de la célula huésped.

Las células transformadas y huésped incluyen pero no se limitan a microorganismos tales como bacterias y levadura; y células de planta, insectos y mamíferos. Por ejemplo, las bacterias transformadas con vectores de expresión de ácido nucleico bacteriófago recombinante, ácido nucleico de plásmido ácido nucleico de cósmido; levaduras transformadas con vectores de expresión de levadura recombinante; sistemas de células vegetales infectadas con vectores de expresión de virus recombinante (por ejemplo, virus del mosaico de la coliflor, CaMV; virus de mosaico del tabaco, TMV) o transformados con vectores de expresión de plásmido recombinantes (por ejemplo, plásmido Ti); sistemas de células de insectos infectados con los vectores de expresión de virus recombinante (por ejemplo, baculovirus); y sistemas de células animales infectados con vectores de expresión de virus recombinante (por ejemplo, retrovirus,

adenovirus, virus de vacuna), o sistemas de células animales transformados manipuladas para propagación o expresión transitoria o estable.

Para usos y métodos de terapia de genes, una célula transformada puede estar en un sujeto. Una célula en un sujeto puede transformarse con un ácido nucleico que codifica una secuencia de péptidos de la invención como se establece en la presente *in vivo*. Alternativamente, una célula puede transformarse *in vitro* con un transgen o polinucleótido, y después trasplantarse hacia un tejido del sujeto para efectuar el tratamiento. Alternativamente, una célula primaria aislada o línea celular establecida pueden transformarse con una transgen o polinucleótido que codifica una variante de FGF19 y/o FGF21 o una secuencia de fusión/quimérica (o variante) de la misma, tal como una secuencia de péptidos quiméricos que incluye todo o una porción de FGF19, o incluye todo o una porción de FGF21, y después se trasplanta opcionalmente en un tejido de un sujeto.

Las células objetivo no limitantes para la expresión de las secuencias de péptidos, particularmente para la expresión *in vivo*, incluyen las células del páncreas (células de islote), células musculares, células mucosales y células endócrinas. Tales células endócrinas pueden proporcionar una producción inducible (secreción) de una

variante de FGF19 y/o FGF21, o una secuencia de fusión/quimérica (o variante) de la misma, tal como una secuencia de péptidos quimérica que incluye todo o una porción de FGF19, o incluye todo o una porción de FGF21. Las células adicionales para transformar incluyen células madre u otras células multipotentes o pluripotentes, por ejemplo, células progenitoras que se diferencian en las diversas células del páncreas (células de islote), células musculares, células mucosales y células endócrinas. El objetivo de las células madre es proporcionar expresión a más largo plazo de las secuencias de péptidos de la invención.

Como se utiliza en la presente, el término "cultivo", cuando se utiliza con referencia a una célula, significa que la célula se cultiva *in vitro*. Un ejemplo particular de tal célula es una célula aislada de un sujeto, y se cultiva o se adapta para cultivar en un cultivo de tejido. Otro ejemplo es una célula manipulada genéticamente *in vitro*, y trasplantada de nuevo hacia el mismo o un sujeto diferente.

El término "aislado", cuando se utiliza con referencia a una célula, significa una célula que se separa de su ambiente *in vivo* de origen natural. Las células "cultivadas" y "aisladas" pueden manipularse por la mano del hombre, tal como transformadas genéticamente. Estos términos incluyen cualquier progenie de las células, que incluyen las

células progenie, que no pueden ser idénticas a las células parentales debido a las mutaciones que ocurren durante la división celular. Los términos no incluyen un ser humano completo.

Los ácidos nucleicos que codifican las secuencias de péptidos de la invención pueden introducirse para expresión estable en células de un organismo completo. Tales organismos que incluyen animales transgénicos no humanos son útiles para estudiar el efecto de la expresión de péptido en un animal completo y beneficio terapéutico. Por ejemplo, como se describe en la presente, la producción de una variante de FGF19 y/o FGF21 o una secuencia de fusión/quimérica (o variante) de la misma, tal como una secuencia de péptidos quimérica que incluye todo o una porción de FGF19, o incluye todo o una porción de FGF21 como se establece en la presente, en ratones con glucosa disminuida que es antidiabético.

Las cepas de ratones que desarrollan o son susceptibles a desarrollar una enfermedad particular (por ejemplo, diabetes, trastornos degenerativos, cáncer, etc.) también son útiles para introducir proteínas terapéuticas como se describe en la presente para estudiar el efecto de la expresión de proteína terapéutica en el ratón susceptible a enfermedad. Los modelos animales transgénicos y genéticos que son susceptibles a una enfermedad particular o padecimientos fisiológicos, tales como ratones diabético (STZ) inducidos

con estreptozotocinas (STZ), son objetivos apropiados para expresar las variantes de FGF19 y/o FGF21, las secuencias de fusiones/quiméricas (o variantes) de las mismas, tal como una secuencia de péptidos quimérica que incluye todo o una porción de FGF19, o incluye todo o una porción de FGF21, como se establece en la presente. Por lo tanto, de acuerdo con la invención, se proporcionan animales transgénicos no humanos que producen una variante de FGF19 y/o FGF21, o una secuencia de fusión/quimérica (o variante) de la misma, tal como una secuencia de péptidos quimérica que incluye todo o una porción de FGF19, o incluye todo o una porción de FGF21, la producción de la cual no es de origen natural en el animal al cual se confiere por un transgen presente en células somáticas o germinales del animal.

El término "animal transgénico" se refiere a un animal cuyas células de línea somática o germinal soportan la información genética recibida, directa o indirectamente, por manipulación genética deliberada al nivel subcelular, tal como por microinyección o infección con un virus recombinante. El término "transgénico" además incluye células o tejidos (es decir, "célula transgénica", "tejido transgénico") obtenidos a partir de un animal transgénico genéticamente manipulado como se describe en la presente. En el presente contexto, un "animal transgénico" no abarca animales producidos por cruce clásico o fertilización *in*

vitro, sino más bien indica animales en los que una o más células reciben una molécula de ácido nucleico. Los animales transgénicos de la invención pueden ser ya sea heterocigotos u homocigotos con respecto al transgen. Los métodos para producir animales transgénicos, que incluyen ratones, ovejas, cerdos y ranas, se conocen bien en el arte (véase, por ejemplo, Patentes de los Estados Unidos Nos. 5,721,367, 5,695,977, 5,650,298, y 5,614,396) y, como tales, se incluyen adicionalmente.

Las secuencias de péptidos, ácidos nucleicos que codifican las secuencias de péptidos, vectores y célula de huésped transformadas que expresan secuencias de péptidos incluyen formas aisladas y purificadas. El término "aislado", cuando se utiliza como un modificador de una composición de la invención, significa que la composición se separa, sustancial y completamente o al menos en parte, de uno o más componentes en un ambiente. Generalmente, las composiciones que existen en la naturaleza, cuando se aíslan, se encuentran sustancialmente libres de uno o más materiales con los cuales se asocian normalmente en la naturaleza, por ejemplo, una o más proteínas, ácido nucleico, lípidos, carbohidrato o membrana celular. El término "aislado" no excluye formas físicas alternativas de la composición, tal como variantes, modificaciones o formas derivatizadas, fusiones y quimeras, multímeros/oligómeros, etc., o formas expresadas en células

huésped. El término "aislado" tampoco excluye las formas (por ejemplo, composiciones farmacéuticas, composiciones de combinación, etc.) en las cuales existen combinaciones en la misma, cualquiera de las cuales se produce por la mano del hombre.

Una composición "aislada" también puede "purificarse" cuando está libre de algunos, un número sustancial de, o la mayoría o todo de uno más de otros materiales, tales como un contaminante o una sustancia o material indeseado. Las secuencias de péptidos de la invención generalmente no se conocen o se cree que existan en la naturaleza. Sin embargo, para una composición que existe en la naturaleza, una composición aislada se encontrará generalmente libre de algunos, un número sustancial de, o la mayoría o todos los otros materiales con los cuales se asocia típicamente en la naturaleza. Por lo tanto, una secuencia de péptidos aislada que también es de origen natural no incluye polipéptidos o polinucleótidos presentes entre los millones de otras secuencias, tales como proteínas de una biblioteca de proteína o ácidos nucleicos en una biblioteca genómica o de ADNc, por ejemplo. Una composición "purificada" incluye combinaciones con una o más de otras moléculas activas o inactivas. Por ejemplo, una secuencia de péptidos de la invención combinada con otro fármaco o agentes, tal como un fármaco que disminuye la glucosa o agente terapéutico, por

ejemplo.

Como se utiliza en la presente, el término "recombinante", cuando se utiliza como un modificador de las secuencias de péptidos, ácidos nucleicos que codifican las secuencias de péptidos, etc., significa que las composiciones se han manipulado (es decir, genomanipulado) en una forma que generalmente no ocurre en la naturaleza (por ejemplo, *in vitro*). Un ejemplo particular de un péptido recombinante puede estar donde una secuencia de péptidos de la invención se expresa por una célula transfectada con un ácido nucleico que codifica la secuencia de péptidos. Un ejemplo particular de un ácido nucleico recombinante puede estar donde un ácido nucleico (por ejemplo, genómico o de ADNc) que codifica una secuencia de péptidos se clona en un plásmido, con o sin las regiones 5', 3' o intrón que el gen es normalmente contiguo con el genoma del organismo. Otro ejemplo de un péptido recombinante o ácido nucleico es una secuencia híbrida o de fusión, tal como una secuencia de péptidos quimérica que comprende una porción de FGF19 y una porción de FGF21.

De acuerdo con la invención, se proporcionan composiciones y mezclas de secuencias de péptidos de la invención, que incluyen subsecuencias, variantes y formas modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas (que incluyen las variantes FGF19 y FGF21 y subsecuencias listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1, y las fusiones y quimeras

FGF19/FGF21 listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1). En una modalidad, una mezcla incluye una o más secuencias de péptidos y un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable. En otra modalidad, una mezcla incluye una o más secuencias de péptidos y un fármaco adjunto o agente terapéutico, tal como un anti-diabético, o fármaco agente terapéutico que disminuye la glucosa. Ejemplos de fármacos y agentes terapéuticos se establecen en adelante. Las combinaciones, tales como una o más secuencias de péptidos en un portado o excipiente farmacéuticamente aceptable, con uno o más de un anti-diabético, o fármaco o agente terapéutico que disminuye la glucosa también se proporcionan. Tales combinaciones de secuencia de péptidos de la invención con otro fármaco o agente, tal como un fármaco o agente terapéutico que disminuye la glucosa, por ejemplo son útiles de acuerdo con los métodos y usos de la invención, por ejemplo, para el tratamiento de un sujeto.

Las combinaciones también incluyen la incorporación de las secuencias de péptidos o ácidos nucleicos de la invención hacia partículas o sustancias poliméricas, tales como poliésteres, carbohidratos, ácidos de poliamina, hidrogel, polivinil pirrolidona, etilen-vinilacetato, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, sulfato de protamina, o copolímeros de láctido/glicólido, copolímeros de poliláctido/glicólido, o copolímeros de etilenvinilacetato;

entrampamiento en microcápsulas preparadas por técnicas de coacervación o por polimerización interfacial, por ejemplo, por el uso de hidroximetilcelulosa o microcápsulas de gelatina, o microcápsulas de poli (metilmetacrolato), respectivamente; la incorporación en sistemas de suministro y dispersión de fármacos coloides tales como complejos de macromoléculas, nano-cápsulas, microesferas, cuentas, y sistemas a base de lípidos (por ejemplo, grupos de N-acilo graso, tal como N-lauroilo, N-oleilo, aminas grasas tales como dodecil amina, oleoil amina, etc., véase la Patente de los E.U. No. 6,638,513), que incluye emulsiones de aceite en agua, micelas, micelas mezcladas y liposomas, por ejemplo.

Los péptidos de la invención incluyen subsecuencias, variantes y formas modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas (que incluyen las variantes FGF19 y FGF21 y subsecuencias listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1, y las fusiones y quimeras FGF19/FGF21 listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1) como se establece en la presente pueden utilizarse para modular el metabolismo de glucosa y facilitar el transporte de glucosa desde la sangre a órganos metabólicos clave tales como músculos, hígado y grasa. Tales secuencias de péptidos pueden producirse en cantidades suficientes o efectivas para restaurar la tolerancia a la glucosa y/o para mejorar o proporcionar la homeostasis de glucosa normal.

Como se describe en la presente, la administración de diversas variantes FGF19 y/o FGF21 y las secuencias de péptidos de fusión para ratones reduce exitosamente los niveles de glucosa. Además, en contraste con FGF19, ciertas secuencias de péptidos no estimulan o inducen la formación de HCC o tumorigénesis en ratones. Por lo tanto, la administración de péptidos de la invención, que incluyen subsecuencias, variantes y formas modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas (que incluyen las variantes FGF19 y FGF21 y subsecuencias listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1, y las Fusiones y quimeras FGF19 FGF21 listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1), en un animal, ya sea por métodos directos o indirectos *in vivo* o por *ex vivo* (por ejemplo, administrar el péptido variante o de fusión, un ácido nucleico que codifica el péptido variante o de fusión, o una célula transformada o vector de terapia de genes que expresa el péptido variante o de fusión), puede utilizarse para tratar diversos trastornos.

Por consiguiente, la invención incluye métodos y usos *in vitro, ex vivo* e *in vivo* (por ejemplo, sobre o en un sujeto). Tales métodos y usos pueden practicarse con cualquiera de las secuencias de péptidos de la invención establecidas en la presente.

De acuerdo con la invención, se proporcionan métodos para tratar un sujeto que tiene, o se pone en riesgo

de tener, un trastorno. En diversas modalidades, el método incluye administrar una secuencia de péptido, tal como una variante, fusión o quimera FGF19 o FGF21 listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1, o una subsecuencia, una variante o forma modificada de una variante, fusión o quimera FGF19 o FGF21 listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1, a un sujeto en una cantidad efectiva para tratar el trastorno.

Trastornos ejemplares tratables, prevenibles y similares con los péptidos de la invención, y métodos y usos, incluyen enfermedades y trastornos metabólicos. Ejemplos no limitantes de enfermedades y trastornos incluyen: 1. Trastorno de la utilización de glucosa y la secuela asociada con el mismo, que incluye diabetes mellitus (Tipo I y Tipo-2), diabetes gestacional, hiperglicemia, resistencia a la insulina, metabolismo de glucosa anormal, "pre-diabetes (Intolerancia a la Glucosa en Ayunas (IFG) o Intolerancia a la Glucosa (IGT)), y otros trastornos fisiológicos asociados con, o que resultan de la condición hiperglicémica, que incluyen, por ejemplo, cambios histopatológicos tales como destrucción de las células β pancreáticas. Para el tratamiento, las secuencias de péptidos de la invención pueden administrarse a sujetos que tienen un nivel de glucosa en plasma (FPG) mayor que alrededor de 100 mg/dl. Las secuencias de péptidos de la invención también pueden ser útiles en otros trastornos hiperglicémicos relacionados, que

incluyen daño renal (por ejemplo, daño del túbulo o nefropatía), degeneración hepática, daño ocular (por ejemplo, retinopatía diabética o cataratas), y trastornos del pie diabético; 2. Dislipidemias y sus secuelas tales como, por ejemplo, ateroesclerosis, enfermedad de arteria coronaria, trastornos cerebrovasculares y similares; 3. Otros padecimientos los cuales se asocian con el síndrome metabólico, tal como obesidad y la masa corporal elevada (que incluyen los padecimientos de co-morbidez de los mismos, tales como, pero no limitados a, enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), y síndrome de ovario poliquístico (PCOS)), y también incluye trombosis, estados hipercoagulables y protrombótico (arterial y venoso), hipertensión, enfermedad cardiovascular, apoplejía e insuficiencia cardiaca; 4. Trastornos o padecimiento en los cuales las reacciones inflamatorias se encuentran implicadas, que incluyen ateroesclerosis, enfermedades crónicas inflamatorias del intestino (por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerativa), asma, lupus eritematoso, artritis, u otros trastornos reumáticos inflamatorios; 5. Trastornos del ciclo celular o procesos de diferenciación celular tales como tumores de células adiposas, carcinoma lipomatoso que incluye por ejemplo, liposarcomas, tumores sólidos, y neoplasmas; 6. Enfermedades neurodegenerativas y/o trastornos desmielimizantes de los sistemas nervioso central y

periférico y/o enfermedades neurológicas que implican procesos neuroinflamatorios y/u otras neuropatías periféricas, que incluyen enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple, enfermedad de Parkinson, leucoencefalopatía multifocal progresiva y síndrome de Guillian-Barre; 7. Trastornos de la piel y dermatológicos y/o trastornos de procesos de curación de heridas, que incluyen dermatosis eritemato-escamosa; y 8. Otros trastornos tales como síndrome X, osteoartritis, y síndrome de dificultad respiratoria aguda.

Como se utiliza en la presente, el término "hiperglicémico" o "hiperglicemia", cuando se utiliza con referencia a un padecimiento de un sujeto significa un nivel anormalmente alto transitorio o crónico de glucosa presente en la sangre de un sujeto. El padecimiento puede ser causado por un retraso en el metabolismo de glucosa o absorción de tal manera que el sujeto muestra intolerancia a la glucosa o un estado de glucosa elevado encontrado típicamente en sujetos normales (por ejemplo, en sujetos pre-diabéticos intolerantes a la glucosa en riesgo de desarrollar diabetes, o sujetos diabéticos). Los niveles de glucosa en plasma en ayunas (FPG) para normoglicemia son menos de alrededor de 100 mg/dl, para metabolismo de la glucosa, entre alrededor de 100 y 126 mg/dl, y para diabéticos mayor de alrededor de 126 mg/dl.

Como se describe en la presente, la invención incluye métodos para prevenir (por ejemplo, en sujetos predispuestos a tener uno o más trastornos particulares), retardar, aminorar o inhibir la progresión de la aparición de, o tratar (por ejemplo, aminorar) la obesidad o una masa corporal indeseable (por ejemplo, índice de masa corporal mayor que lo normal, o "BMI" en relación con un sujeto idóneo apropiado de edad, género, raza comparable, etc.). Por lo tanto, en diversas modalidades, un método de la invención, por ejemplo, para tratar la obesidad o una masa corporal indeseable (que incluye los padecimientos co-mórbidos de obesidad, por ejemplo, apnea del sueño obstructiva, artritis, cáncer (por ejemplo, de mama, endometrial, y de colon), cálculos biliares o hiperglicemia, incluye poner en contacto o administrar un péptido de la invención como se establece en la presente (por ejemplo, una variante o fusión de FGF19 y/o FGF21 como se establece en las Tablas 1-8 o la Figura 1, por ejemplo) en una cantidad efectiva para tratar la obesidad o una masa corporal indeseable. En aspectos particulares, un sujeto tiene un índice de masa corporal mayor que 25, por ejemplo, 25-30, 30-35, 35-40, o más de 40.

Además, la invención incluye métodos para prevenir (por ejemplo, en sujetos predispuestos a tener uno o más trastornos particulares), aminorar o inhibir la progresión de, retardar la aparición de o tratar niveles indeseables o

elevadas de suero/plasma LDL, VLDL, triglicéridos o colesterol, todos de los cuales, solos o en combinación, pueden conducir a, por ejemplo, la formación de placas, estrechamiento o bloqueo de los vasos sanguíneos, y riesgo incrementado de hipertensión, apoplejía y enfermedad de la arteria coronaria. Tales trastornos pueden ser debidos por ejemplo, a predisposición genética o dieta, por ejemplo.

El término "sujeto" se refiere a un animal. Típicamente, el animal es un mamífero que puede beneficiarse del tratamiento con una secuencia de péptidos de la invención. Ejemplos particulares incluyen primates (por ejemplo, humanos), perros, gatos, caballos, vacas, cerdos y ovejas.

Los sujetos incluyen aquellos que tienen un trastorno, por ejemplo, un trastorno hiperglicémico, tal como diabetes, o sujetos que no tienen un trastorno pero que pueden estar en riesgo de desarrollar el trastorno, por ejemplo, sujetos pre-diabéticos que tienen niveles de FPG mayores que 100 mg/dl, por ejemplo, entre alrededor de 100 y 126 mg/dl. Los sujetos en riesgo de desarrollar un trastorno incluyen, por ejemplo, aquellos cuya dieta puede contribuir en el desarrollo de hiperglicemia aguda o crónica (por ejemplo, diabetes), masa corporal indeseable u obesidad, así como también aquellos que pueden tener un historial familiar o predisposición genética hacia el desarrollo de

hiperglicemia aguda o crónica, o masa corporal indeseable u obesidad.

Como se describe en la presente, los métodos del tratamiento incluyen poner en contacto o administrar un péptido de la invención como se establece en la presente (por ejemplo, una variante o fusión de FGF19 y o FGF21 como se establece en las Tablas 1-8 o la Figura 1, por ejemplo) en una cantidad efectiva para lograr un efecto o resultado deseado en un sujeto. Un tratamiento que resulta en un efecto o resultado deseado incluye disminución, reducción o prevención de la severidad o frecuencia de uno o más síntomas del padecimiento en el sujeto, por ejemplo, una mejora en el padecimiento del sujeto o un "efecto benéfico" o "efecto terapéutico". Por lo tanto, el tratamiento puede disminuir o reducir o prevenir la severidad o frecuencia de uno o más síntomas del trastorno, estabilizar o inhibir la progresión o empeoramiento del trastorno, y en algunos casos, invertir el trastorno, en forma transitoria (por ejemplo, durante 1-6, 6-12, o 12-24 horas), durante un mediano plazo (por ejemplo, 1-6, 6-12, 12-24 o 24-48 días) o a largo plazo (por ejemplo, durante 1-6, 6-12, 12-24, 24-48 semanas, o más de 24-48 semanas). Por lo tanto, en el caso de un trastorno hiperglicémico, por ejemplo, el tratamiento puede disminuir o reducir la glucosa en sangre, mejorar las tolerancia a la glucosa, mejorar el metabolismo a la glucosa, proporcionar

homeostasis de glucosa normal, disminuir o reducir la resistencia a la insulina, disminuir o reducir los niveles de insulina, o disminuir, prevenir, mejorar, o invertir el síndrome metabólico, o un cambio histopatológico asociado con lo que resulte del trastorno hiperglicémico, tal como diabetes.

Por ejemplo, una secuencia de péptidos, método o uso pueden disminuir o reducir glucosa en uno o más sujetos que tienen niveles de FPG mayores que 100 mg/dl, por ejemplo, entre alrededor de 100 y 125 mg/dl, o más de 125 mg/dl, por 5-10%, 10-20%, 20-30%, o 30-50%, o más, o por ejemplo de más de 200 mg/dl a menos de 200 mg/dl, por más de 150 mg/dl a menos de 150 mg/dl, desde más de 125 mg/dl a menos de 125 mg/dl, etc. Además, una secuencia de péptidos, método o uso pueden disminuir o reducir la glucosa, por ejemplo, para pre-diabetes o para diabetes (por ejemplo, Tipo 2) sujetos con niveles de HbAIc de línea base mayores de alrededor de 5%, 6%, 7%, 8%, 9% o 10%, en particular 5%, 6%, o 7%.

Ejemplos no limitantes de un mejoramiento de un cambio histopatológico asociado con un padecimiento hiperglicémico incluye, por ejemplo, disminuir, inhibir, reducir o detener: la destrucción o degeneración de las células del páncreas (por ejemplo, células β), daño renal tal como calcificación del túbulo o nefropatía, degeneración del hígado, daño del ojo (por ejemplo, retinopatía diabética,

cataratas), pie diabético, ulceraciones en mucosa tal como boca y encías, periodontitis, exceso de sangrado, cicatrización lenta o retardada de lesiones o heridas (por ejemplo, que conduce a carbuncos diabéticos), infecciones de la piel y otros trastornos cutáneos, enfermedad del corazón cardiovascular y coronaria, enfermedad vascular periférica, apoplejía, dislipidemia, hipertensión, obesidad, o el riesgo de desarrollar cualquiera de lo anterior. Mejoramiento en la masa corporal indeseable y obesidad puede incluir, por ejemplo, una reducción de la masa corporal (como se refleja por BMI o similares) o un mejoramiento en el trastorno asociado, tal como una disminución en los niveles de triglicéridos, colesterol, LDL o VLDL, una disminución en la presión sanguínea, una disminución en el engrosamiento de la íntima del vaso sanguíneo, riesgo disminuido o reducido de enfermedad cardiovascular, o apoplejía, disminución en la frecuencia cardíaca en reposo, etc.

Una "cantidad efectiva" o una "cantidad suficiente" para su uso y/o para tratar un sujeto se refiere a una cantidad que proporciona, en dosis simples o múltiples, sola o en combinación con una o más composiciones adicionales (agentes terapéuticos tales como fármaco o tratamiento para hiperglicemia), tratamientos, protocolos, o agentes de regímenes terapéuticos, una respuesta detectable de cualquier duración de tiempo (transitorio, medio o a largo plazo), un

resultado deseado en o un beneficio objetivo o subjetivo a un sujeto de cualquier grado medible o detectable durante cualquier duración de tiempo (por ejemplo, durante horas, días, meses, años, o curados). Tales cantidades típicamente son efectivas para mejorar un trastorno, o uno, múltiples o todos los síntomas adversos, consecuencias o complicaciones del trastorno, a un grado medible, aunque reducir o inhibir una progresión o empeoramiento del trastorno, se consideran un resultado satisfactorio.

Como se utiliza en la presente, el término "mejorar" significa una mejora en el trastorno del sujeto, una reducción en la severidad del trastorno, o una inhibición de progresión o empeoramiento del trastorno (por ejemplo, estabilizar el trastorno). En el caso de un trastorno hiperglicémico (por ejemplo, diabetes, resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, síndrome metabólico, etc.), por ejemplo, una mejora puede ser una disminución o reducción en la glucosa en sangre, una reducción en la resistencia a la insulina, una reducción en glucagón, una mejora en la tolerancia a la glucosa, o metabolismo de glucosa o homeostasis. Una mejora en el trastorno hiperglicémico también incluye una función pancreática mejorada (por ejemplo, inhibir o prevenir la destrucción de células β/isleta o mejorar el número y/o función de las células β), una disminución en una patología asociada con lo

que resulta del trastorno, tal como una mejora en histopatología de un tejido u órgano afectado, como se establece en la presente. En el caso de la masa corporal indeseable u obesidad, por ejemplo, una mejora puede ser una disminución en la ganancia de peso, una reducción de masa corporal (como se refleja en BMI reducida, por ejemplo) o una mejora en un padecimiento asociado con masa corporal indeseable u obesidad, por ejemplo, como se establece en la presente (por ejemplo, una disminución reducción de los niveles de glucosa en sangre, triglicéridos, colesterol, LDL o VLDL, una disminución en la presión sanguínea, una disminución en el grosor de la íntima del vaso sanguíneo, etc.).

Un beneficio terapéutico o mejoramiento del mismo no necesita ser la ablación completa de cualquiera, la mayoría o todos los síntomas, complicaciones, consecuencias o causas subyacentes asociadas con el trastorno o enfermedad. Por lo tanto, un punto final satisfactorio se logra cuando existe una mejora incrementada transitoria, media o a largo plazo en un padecimiento del sujeto, o una reducción parcial en la ocurrencia, frecuencia, severidad, progresión, o duración, o inhibición o reversión, de uno o más síntomas adversos asociados o complicaciones o consecuencias o causas subyacentes, empeoramiento o progresión (por ejemplo, estabilización de uno o más síntomas o complicaciones del

padecimiento, trastorno o enfermedad), del trastorno o enfermedad, durante una duración de tiempo (horas, días, semanas, meses, etc.).

Por lo tanto, en el caso de un trastorno tratable por una secuencia de péptidos de la invención, la cantidad de péptido suficiente para mejorar un trastorno dependerá del tipo, severidad y grado, o duración del trastorno, el efecto terapéutico o el resultado deseado, y puede terminarse fácilmente por el técnico especializado. Las cantidades apropiadas también dependerán del sujeto individual (por ejemplo, la biodisponibilidad dentro del sujeto, género, edad, etc.). Por ejemplo, en una restauración transitoria o parcial de la homeostasis de glucosa normal en un sujeto puede reducir la cantidad de dosis o frecuencia de inyección de insulina, aunque no se ha logrado la liberación completa de la insulina.

Una cantidad efectiva puede determinarse, por ejemplo, al medir uno o más efectos fisiológicos relevantes. En un ejemplo no limitante particular en el caso de un padecimiento hiperglicémico, una disminución o reducción de glucosa en sangre o una mejora en la prueba de tolerancia a la glucosa puede utilizarse para determinar si la cantidad de la secuencia de péptidos de la invención, que incluye subsecuencias, variantes de secuencia y formas modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas (por ejemplo,

secuencias listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1) es efectiva para tratar un padecimiento hiperglicémico. En otro ejemplo no limitante particular, una cantidad efectiva es una cantidad suficiente para reducir o disminuir cualquier nivel (por ejemplo, un nivel de línea base) de FPG, en donde, por ejemplo, una cantidad suficiente para reducir un nivel de FPG mayor de 200 mg/dl a menos de 200 mg/dl, una cantidad suficiente para reducir un nivel de FPG entre 175 mg/dl y 200 mg/dl a menos del nivel de pre-administración, una cantidad suficiente para reducir un nivel de FPG entre 150 mg/dl y 175 mg/dl a menos del nivel de pre-administración, una cantidad suficiente para reducir un nivel de FPG entre 125 mg/dl y 150 mg/dl a menos del nivel de pre-administración, etc., (por ejemplo, reducir los niveles de FPG a menos de 125 mg/dl, a menos de 120 mg/dl, a menos de 115 mg/dl, a menos de 110 mg/dl, etc.). En el caso de los niveles de HbAIc, una cantidad efectiva incluye una cantidad suficiente para reducir o disminuir los niveles por más de alrededor de 10% a 9%, por más de alrededor de 9% a 8%, por más de alrededor de 8% a 7%, por más de alrededor de 7% a 6%, por más de alrededor de 6% a 5%, etc. Más particularmente, una reducción o disminución de los niveles de HbAIc por alrededor de 0.1%, 0.25%, 0.4%, 0.5%, 0.6%, 0.7%, 0.8%, 0.9%, 1%, 1.5%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 20%, 30%, 33%, 35%, 40%, 45%, 50%, o más es una cantidad efectiva de acuerdo con la invención. En aún otro

ejemplo no limitante particular en el caso de masa corporal indeseable u obesidad, una cantidad efectiva es una cantidad suficiente para disminuir o reducir el índice de masa corporal (BMI) de un sujeto, una disminución o reducción de glucosa, una disminución o reducción en niveles de suero/plasma de triglicéridos, lípidos, colesterol, ácidos grasos, LDL y/o VLDL. En aún otros ejemplos no limitantes particulares, una cantidad es una cantidad suficiente para disminuir o reducir cualquiera de los parámetros antes mencionados por, por ejemplo, alrededor de 0.1 %, 0.25%, 0.4%, 0.5%, 0.6%, 0.7%, 0.8%, 0.9%, 1%, 1.5%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 20%, 30%, 33%, 35%, 40%, 45%, 50%, o más.

Los métodos y usos de la invención para tratar a un sujeto son aplicables para profilaxis para prevenir un trastorno en un sujeto, tal como un trastorno hiperglicémico, o desarrollo de masa corporal indeseable u obesidad. Alternativamente, los métodos y usos pueden practicarse durante o después del tratamiento de un sujeto. Por ejemplo, antes, durante o después del tratamiento de un sujeto para disminuir la glucosa utilizando insulina u otro fármaco o agente terapéutico que disminuye la glucosa, por ejemplo, un método o uso de la invención puede, por ejemplo, una secuencia de péptidos de la invención puede administrarse al sujeto. Además, una composición tal como una secuencia de péptidos de la invención puede combinarse con otro fármaco o

agente, tal como un fármaco o agente terapéutico que disminuye la glucosa, por ejemplo.

Por consiguiente, los métodos y usos de la invención para tratar a un sujeto pueden practicarse antes de, sustancialmente incorporarse con o después de otro tratamiento, y pueden suplementarse con otras formas de terapia. Las terapias suplementarias incluyen otros tratamientos que disminuyen la glucosa, tal como insulina, mejorador de sensibilidad a la insulina y otros tratamientos de fármacos, un cambio en la dieta (baja en azúcar, grasas, etc.), cirugía de pérdida de peso (reducir el volumen del estómago por el bypass gástrico, gastrectomía), banda gástrica, balón gástrico, manga gástrica, etc. Por ejemplo, un método o uso de la invención para tratar un trastorno hiperglicémico o de resistencia a la insulina puede utilizarse en combinación con fármacos o u otras composiciones farmacéuticas que disminuyen la glucosa o incrementan la sensibilidad a la insulina en un sujeto. Los fármacos para tratar diabetes incluyen, por ejemplo, biguanidas y sulfonilureas (por ejemplo, tolbutamida, clorpropamida, acetohexamida, tolazamida, glibenclamida y glipizida), tiazolidindionas (rosiglitazona, pioglitazona), análogos de GLP-1, inhibidores de Dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4), formulaciones de bromocriptina y secuestrantes de ácidos biliares (por ejemplo, colesevelam), e insulina (por

ejemplo, análogos de bolo y basal), metformina (por ejemplo, clorhidrato de metformina) con o sin una tiazolidindiona (TZD), e inhibidores de SGLT-2. Los fármacos de supresión de apetito se conocen y pueden utilizarse en combinación con los métodos de la invención. Las terapias suplementarias pueden administrarse antes de, contemporáneamente con o después de los métodos y usos de la invención.

Las secuencias de péptidos de la invención incluyen subsecuencias, variantes de secuencia y formas modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas (secuencias listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1), pueden formularse en una dosis unitaria o forma de dosis unitaria. En una modalidad particular, una secuencia de péptidos se encuentra en una cantidad efectiva para tratar a un sujeto en necesidad del tratamiento, por ejemplo, debido a hiperglicemia. Ejemplos de dosis unitarias varían de alrededor de 25-250, 250-500, 500-1000, 1000-2500 ó 2500-5000, 5000-25,000, 25,000-50,000 ng; de alrededor de 25-250, 250-500, 500-1000, 1000-2500 o 2500-5000, 5000-25,000, 25,000-50,000 µg; y alrededor de 25-250, 250-500, 500-1000, 1000-2500 ó 2500-5000, 5000-25,000, 25,000-50,000 mg.

Las secuencias de péptidos de la invención incluyen subsecuencias, variantes de secuencia y formas modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas (secuencias listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1) pueden

administrarse para proporcionar los efectos pretendidos como una dosis simple o múltiples dosis, por ejemplo, en una cantidad efectiva o suficiente. Las dosis ejemplares varían alrededor de 25-250, 250-500, 500-1000, 1000-2500 ó 2500-5000, 5000-25,000, 25,000-50,000 pg/kg; de alrededor de 50-500, 500-5000, 5000-25,000 ó 25,000-50,000 ng/kg; y de alrededor de 25-250, 250-500, 500-1000, 1000-2500 ó 2500-5000, 5000-25,000, 25,000-50,000 µg kg. Pueden administrarse dosis simples o múltiples, por ejemplo, múltiples veces al día, en días consecutivos, en días alternos, semanal o intermitentemente (por ejemplo, dos veces a la semana, una vez cada 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 semanas, o una vez cada 2, 3, 4, 5 ó 6 meses).

Las secuencias de péptidos de la invención incluyen subsecuencias, variantes y formas modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas (secuencias listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1) pueden administrarse y los métodos pueden practicarse mediante la administración sistémica, regional o local, por cualquier ruta. Por ejemplo, una secuencia de péptidos puede administrarse parenteralmente (por ejemplo, subcutánea, intravenosa, intramuscular, o intraperitonealmente), oralmente (por ejemplo, ingestión, bucal, o sublingual), inhalación, intradérmica, intracavitaria, intracraneal, transdérmica (tópica), transmucosal o rectalmente. Las secuencias de péptidos de la

invención incluyen subsecuencias, variantes y formas modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas (secuencias listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1) y los métodos de la invención que incluyen composiciones farmacéuticas pueden administrarse un sistema de suministro microencapsulado o empacado en un implante para administración.

La invención proporciona además "composiciones farmacéuticas", que incluyen una secuencia (o secuencias) de péptidos de la invención, que incluyen subsecuencias, variantes y formas modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas (secuencias listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1), y uno o más diluyentes, portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables o fisiológicamente aceptables. En modalidades particulares, una secuencia de péptidos o secuencias se encuentran presente en una cantidad terapéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas pueden utilizarse de acuerdo con los métodos y usos de la invención. Por lo tanto, por ejemplo, las composiciones farmacéuticas pueden administrarse *ex vivo* o *in vivo* a un sujeto para practicar los métodos y usos de tratamiento de la invención.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden formularse para ser compatibles con los métodos pretendidos o rutas de administración; las rutas de

administración ejemplares se establecen en la presente. Además, las composiciones farmacéuticas además pueden comprender otros agentes terapéuticamente activos o compuestos descritos en la presente (por ejemplo, agentes que disminuyen la glucosa) o conocidos por el técnico especializado que puede utilizarse en el tratamiento o prevención de diversas enfermedades y trastornos como se establece en la presente.

Las composiciones farmacéuticas típicamente comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de por lo menos una de las secuencias de péptidos de la invención, que incluyen subsecuencias, variantes y formas modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas (secuencias listadas en las Tablas 1-8 y la Figura 1) y uno o más agentes de formulación farmacéutica o fisiológicamente aceptables. Diluyentes portadores o excipientes adecuados farmacéuticamente aceptables o fisiológicamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, antioxidantes (por ejemplo, ácido ascórbico y bisulfato de sodio), conservadores (por ejemplo, alcohol bencílico, metilparabenos, etilo o n-propilo, p-hidroxibenzoato), agentes emulsificantes, agentes de suspensión, agentes dispersantes, solventes, cargadores, agentes de carga, reguladores, vehículo, diluyentes y/o adyuvantes. Por ejemplo, un vehículo adecuado puede ser una solución salina fisiológica o una solución salina regulada

con citrato, posiblemente suplementada con otros materiales comunes en composiciones farmacéuticas para administración parenteral. La solución salina regulada neutral o la solución salina mezclada con albúmina de suero son vehículos ejemplares adicionales. Aquellos con experiencia en la técnica reconocerán fácilmente una variedad de reguladores que pueden utilizarse en las composiciones farmacéuticas y formas de dosis utilizadas en la invención. Los reguladores típicos incluyen, pero no se limitan a ácidos débiles farmacéuticamente aceptables, bases débiles, o mezclas de los mismos. Los componentes reguladores también incluyen materiales solubles en agua tales como ácido fosfórico, ácido tartárico, ácido láctico, ácido succínico, ácido cítrico, ácido acético, ácido ascórbico, ácido aspártico, ácido glutámico y sales de los mismos.

Un solvente primario en un vehículo puede ser ya sea acuoso o no acuoso en la naturaleza. Además, el vehículo puede contener otros excipientes farmacéuticamente aceptables para modificar o mantener el pH, osmolaridad, viscosidad, esterilidad o estabilidad de la composición farmacéutica. En ciertas modalidades, el vehículo farmacéuticamente aceptable es un regulador acuoso. En otras modalidades, un vehículo comprende, por ejemplo, cloruro de sodio y/o citrato de sodio.

Las composiciones farmacéuticas de la invención

pueden contener aún otros agentes de formulación farmacéuticamente aceptables para modificar o mantener el índice de liberación de un péptido de la invención. Tales agentes de formulación incluyen aquellas sustancias conocidas por los técnicos especializados en preparar las formulaciones de liberación sostenida. Para mayor referencia pertenecen a los agentes de formulación farmacéutica y fisiológicamente aceptables, véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences. 18th Ed. (1990, Mack Publishing Co., Easton, Pa. 18042) pages 1435-1712, The Merck Index. 12th Ed. (1996, Merck Publishing Group, Whitehouse, NJ); and Pharmaceutical Principles of Solid Dosage Forms (1993, Technonic Publishing Co., Inc., Lancaster, Pa.). Las composiciones farmacéuticas adicionales apropiadas para administración se conocen en la técnica y son aplicables en los métodos y composiciones de la invención.

Una composición farmacéutica puede almacenarse en un frasco estéril como una solución, suspensión, gel, emulsión, sólido, o polvo deshidratado o liofilizado. Tales composiciones pueden almacenarse ya sea en una forma lista para usarse, una forma liofilizada que requiere reconstitución antes de su uso, una forma líquida que requiere la dilución antes de su uso, u otra forma aceptable. En algunas modalidades, una composición farmacéutica se proporciona en un contenedor de un solo uso (por ejemplo, un

frasco, ampolla, jeringa o autoinyector de un solo uso (similar a, por ejemplo, un EpiPen®)), mientras un contenedor de múltiples usos (por ejemplo, un frasco de múltiples usos) se proporciona en otras modalidades. Cualquier aparato de suministro de fármaco puede utilizarse para suministrar los péptidos de la invención, que incluyen implantes (por ejemplo, bombas implantables) y sistemas de catéter, ambos de los cuales se conocen por el técnico experimentado. Las inyecciones depot, las cuales se administran generalmente de manera subcutánea o intramuscularmente, también pueden utilizarse para la liberación de los péptidos de la invención durante un periodo de tiempo definido. Las inyecciones depot son usualmente ya sea a base de sólidos o aceite y generalmente comprenden por lo menos uno de los componentes de la formulación establecidos en la presente. El técnico con experiencia se encuentra familiarizado con las formulaciones posibles y uso de las inyecciones depot.

Una composición farmacéutica puede formularse para ser compatible con su ruta de administración pretendida. Por lo tanto, las composiciones farmacéuticas incluyen portadores, diluyentes, o excipientes adecuados para la administración por rutas que incluyen parenteral (por ejemplo, subcutánea (s.c), intravenosa, intramuscular, o intraperitoneal), intradérmica, oral (por ejemplo, ingestión), inhalación, intracavidad, intracraneal, y

transdérmica (tópica).

Las composiciones farmacéuticas pueden estar en la forma de una suspensión acuosa u oleosa inyectable estéril. Esta suspensión puede formularse utilizando agentes de dispersión o de humectación adecuados y agentes de suspensión descritos en la presente o conocidos por el técnico con experiencia. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butandiol. Los diluyentes, solventes y medios de dispersión aceptables que pueden emplearse incluyen agua, solución de Ringer, solución de cloruro de sodio isotónico, Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, NJ) o solución salina regulada por fosfato (PBS), etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, y polietilenglicol líquido), y mezclas adecuadas de los mismos. Además, los aceites estériles, fijos se emplean convencionalmente como un solvente o medio de suspensión. Para este propósito cualquier mezcla de aceite fija puede emplearse incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos tales como ácido oleico encuentran uso en la preparación de inyectables. La absorción prolongada de formulaciones inyectables particulares puede lograrse al incluir un agente que retarda la absorción (por ejemplo, monoestearato de aluminio o gelatina).

Las composiciones farmacéuticas pueden estar en una forma adecuada para su uso oral, por ejemplo, como tabletas, cápsulas, trociscos, grageas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o suaves, o jarabes, soluciones, microcuentas o elíxires. Las composiciones farmacéuticas pretendidas para su uso oral pueden prepararse de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas. Tales composiciones pueden contener uno o más agentes tales como agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y agentes conservadores para proporcionar preparaciones farmacéuticamente de buen tono y de sabor agradable. Las tabletas que contienen un péptido de la invención pueden estar en una mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos adecuados para la fabricación de tabletas. Estos excipientes incluyen, por ejemplo, diluyentes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y desintegración, por ejemplo, almidón de maíz, o ácido algínico; agentes aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina o acacia, y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido estérico o talco.

Las tabletas, cápsulas y similares adecuados para la administración oral pueden contarse sin recubrir o pueden recubrirse por técnicas conocidas para retardar la

desintegración y absorción en el tracto gastrointestinal y proporcionar así una acción sostenida durante un periodo prolongado. Por ejemplo, un material de retardo de tiempo tal como el monoestearato de glicerol o distearato de glicerilo puede emplearse. También pueden recubrirse por técnicas conocidas en el arte para formar tabletas terapéuticas osmóticas para liberación controlada. Agentes adicionales incluyen partículas biodegradables o biocompatibles o una sustancia polimérica tal como poliésteres, ácidos de poliamina, hidrogel, polivinil pirrolidona, polianhídridos, ácido poliglicólico, vinilacetato de etileno, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, sulfato de protamina, o copolímeros de láctido/glicólido, copolímeros de poliláctido/glicólido, o copolímeros de etilenvinilacetato con el fin de controlar el suministro de una composición administrada. Por ejemplo, el agente oral puede estar atrapado en microcápsulas preparadas por técnicas de coacervación o por polimerización interfacial, por el uso de hidroximetilcelulosa o microcápsulas de gelatina o microcápsulas de poli (metilmetacrolato), respectivamente, o en un sistema de suministro de fármaco coloidal. Los sistemas de dispersión coloidal incluyen complejos macromolécula, nano-cápsulas, microesferas, microcuentas, y sistemas a base de lípidos, que incluyen emulsiones de aceite en agua, micelas, micelas mezcladas, y liposomas. Los métodos para la preparación de

tales formulaciones se conocen por aquellos con experiencia en el arte y se encuentran comercialmente disponibles.

Las formulaciones para uso oral pueden presentarse como cápsulas de gelatina dura en donde el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio, caolín o celulosa microcristalina, como cápsulas de gelatina suave en donde el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de cacahuate, parafina líquida y aceite de olivo.

Las suspensiones acuosas contienen los materiales activos en la mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de las mismas. Los excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxi-propilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinil-pirrolidona, goma de tragacanto y goma de acacia; agentes de dispersión o humectación pueden ser un fosfátido de origen natural, por ejemplo lecitina, o productos de condensación de un óxido de alquileno con ácidos grasos, por ejemplo, estearato de polioxi-etileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo heptadecaetilenoxicetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tal como monooleato de

polioxietilensorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo monooleato de polietilen sorbitán. Las suspensiones acuosas también pueden contener uno o más conservadores.

Las suspensiones oleosas pueden formularse al suspender el ingrediente activo en un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de cacahuate, aceite de olivo, de ajonjolí o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo cera de abeja, parafina dura o alcohol cetílico. Los agentes edulcorantes tales como aquellos establecidos en lo anterior, y agentes saborizantes pueden agregarse para proporcionar una preparación oral de sabor agradable.

Los polvos dispersables y granos adecuados para la preparación de la suspensión acuosa por adición de agua proporcionan el ingrediente activo en mezcla con un agente de dispersión o humectación, agente de suspensión y uno o más conservadores. Los agentes de dispersión o humectación adecuados y los agentes de suspensión se ejemplifican en la presente.

Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden estar en la forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, por ejemplo

aceite de olivo o aceite de cacahuate, o un aceite mineral, por ejemplo, parafina líquida o mezcla de éstos. Los agentes emulsionantes adecuados pueden ser gomas de origen natural, por ejemplo, goma de acacia o goma de tragacanto; fosfatidas de origen natural, por ejemplo, frijol de soya, lecitina, y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos; anhídridos de hexitol, por ejemplo, monooleato de sorbitán; y productos de condensación de ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo, monooleato de polioexitilen sorbitán.

Las composiciones farmacéuticas también pueden incluir portadores para proteger la composición contra la degradación o eliminación rápida del cuerpo, tal como una formulación de liberación controlada que incluye implantes, liposomas, hidrogeles, profármacos y sistemas de suministro microencapsulados. Por ejemplo, un material de retardo de tiempo tal como monostearato de glicerilo o estearato de glicerilo solo, o en combinación con una cera, pueden emplearse. La absorción prolongada de composiciones farmacéuticas inyectables puede lograrse al incluir un agente que retarda la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio o gelatina. La prevención de la acción de microorganismos puede lograrse por diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal, y similares.

La invención también incluye péptidos de la

invención en la forma de supositorios para administración rectal. Los supositorios pueden prepararse al mezclar un péptido de la invención con un excipiente no irritante adecuado el cual es sólido a temperatura ordinaria pero líquido a la temperatura rectal y por lo tanto se fundirá en el recto para liberación del fármaco. Tales materiales incluyen, pero no se limitan a, manteca de cacao y polietilenglicoles.

De acuerdo con la invención, se proporcionan métodos para identificar un péptido (o forma subsecuente, variante o modificada como se establece en la presente) que tiene actividad de disminución de glucosa sin actividad de carcinoma hepatocelular sustancial (HCC). En una modalidad, un método incluye: selección (por ejemplo, ensayo o medición) de una secuencia de péptidos (o una subsecuencia, variante o forma modificada como se establece en la presente) para la actividad de disminución de glucosa; y la selección (por ejemplo, ensayo o medición) de una secuencia de péptidos (o una subsecuencia, variante o forma modificada como se establece en la presente) para actividad de HCC, o expresión de un marcador que correlaciona con la actividad de HCC. Un péptido que tiene actividad de disminución de glucosa y actividad de HCC reducida o ausente por consiguiente identifica el péptido. En aspectos particulares, el marcador que correlaciona con la actividad de HCC comprende perfil de

lípidos- un péptido que tiene menos lípidos que incrementa la actividad comparada con FGF19 indica que el péptido tiene actividad de HCC reducida o ausente; o el marcador que correlaciona con la actividad de HCC comprende la expresión del gen aldo-ceto reductasa- un péptido que regula descendentemente o disminuye la expresión del gen aldo-ceto reductasa comparado con FGF19 indica que el péptido tiene actividad de HCC reducida o ausente; o el marcador indicativo de la actividad de HCC comprende la expresión del gen Slcla2- un péptido que regula ascendentemente o incrementa la expresión del gen Slcla2 comparado con FGF19 indica que el péptido tiene actividad de HCC reducida o ausente.

Los términos "ensayo" y "medición" y variaciones gramaticales de los mismos se utilizan intercambiablemente en la presente y se refieren ya sea a las determinaciones cualitativa o cuantitativa, o ambas de las determinaciones cualitativa o cuantitativa. Cuando los términos se utilizan con referencia a la detección, se contempla cualquier medio de evaluar la cantidad relativa incluyen los diversos métodos establecidos en la presente y conocidos en la técnica. Por ejemplo, el gen de expresión puede ensayarse o medirse por una transferencia Northern, transferencia Western, ensayo de inmunoprecipitación, o por la actividad de medición, función o cantidad de la proteína expresada (por ejemplo, aldo-ceto reductasa o Slcla2).

Los factores de riesgo para HCC, el tipo más común de cáncer de hígado incluye diabetes tipo 2 (probablemente agravada por la obesidad). El riesgo de HCC en diabéticos de tipo 2 es mayor (de ~2.5 a ~7 veces el riesgo de no diabéticos) dependiendo de la duración de la diabetes y protocolo de tratamiento.

Diversas metodologías pueden utilizarse en la selección y diagnóstico de HCC y se conocen bien por el técnico con experiencia. Los indicadores para HCC incluyen la detección de un marcador de tumor tal como niveles de alfa-proteína elevados (AFP) o des-gamma carboxiprotrombina (DCP). Un número de diferentes técnicas de exploración y formación de imágenes también son útiles, incluyendo ultrasonido, exploración de CT y MRI. En relación con la invención, la evaluación de si un péptido (por ejemplo, un péptido candidato) muestra evidencia de inducir HCC puede determinarse *in vivo* por, por ejemplo, al cuantificar la formación de nódulos HCC en un modelo animal, tal como ratones db/db, se administró un péptido, se comparó con la formación de nódulos de HCC por FGF19 de tipo silvestre. Macroscópicamente, el cáncer de hígado puede ser nodular, en donde los nódulos de tumor (los cuales son de redondos a ovales, grises o verdes, bien delimitados pero no encapsulados) aparecen ya sea como una masa grande o múltiples masas más pequeñas. Alternativamente, el HCC puede

estar presente como un tumor infiltrante el cual es difuso y se circunscribe de manera deficiente y se infiltra frecuentemente a las venas portales.

La evaluación patológica de las muestras de tejido hepático se realiza generalmente después de que los resultados de una o más de las técnicas antes mencionadas indican la probable presencia de HCC. Por lo tanto, los métodos de la invención pueden incluir evaluar una muestra de tejido hepático a partir de un modelo animal *in vivo* (por ejemplo, un ratón db/db) útil en los estudios de HCC para determinar si la secuencia de péptido muestra evidencia de inducir HCC. Por la evaluación microscópica, un patólogo puede determinar si uno de los cuatro tipos de arquitectura y citológica generales (patrones) de HCC se encuentran presentes (es decir, fibrolamelar, pseudoglandular (adenoide), pleomórfico (célula gigante) y célula clara).

La invención también incluye la generación y uso de anticuerpos, y fragmentos de los mismos, que unen las secuencias de péptidos de la invención, que incluyen subsecuencias, variantes de secuencia y formas modificadas de las secuencias de péptidos ejemplificadas (que incluyen los péptidos listados en las Tablas 1-8 y la Figura 1).

Como se utiliza en la presente, los términos "anticuerpos" (Abs) e "inmunoglobulinas" (Igs) se refieren a glicoproteínas que tienen las mismas características

estructurales. Aunque los anticuerpos muestran especificidad de unión a un antígeno, las inmunoglobulinas incluyen ambos anticuerpos y otras moléculas similares a anticuerpos que pueden carecer de especificidad de antígeno.

El término "anticuerpo" incluye anticuerpos monoclonales intactos, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) formados de por lo menos dos anticuerpos intactos, y fragmentos de unión de anticuerpo que incluyen Fab y $F(ab)'_2$, que exhiba la actividad biológica deseada. La unidad estructural de anticuerpo básico comprende un tetrámero, y cada tetrámero se encuentra compuesto de dos pares idénticos de cadenas de polipéptido, cada par tiene una cadena "ligera" (alrededor de 25 kDa) y una cadena "pesada" (alrededor de 50-70 kDa). La porción amino-terminal de cada cadena incluye una región variable de alrededor de 100 a 110 o más aminoácidos principalmente responsables del reconocimiento de antígeno. En contraste, la porción carboxi-terminal de cada cadena define una región constante principalmente responsable de la función efectora. Las cadenas ligeras humanas se clasifican como cadenas ligeras kappa y lambda, mientras que las cadenas pesadas humanas se clasifican como mu, delta, gamma, alfa, o épsilon, y definen el isotipo del anticuerpo como IgM, IgD, IgA, e IgE, respectivamente. Los fragmentos de unión se producen por técnicas de ADN recombinantes, o por escisión

enzimática o química de anticuerpos intactos. Los fragmentos de unión incluyen Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv, y anticuerpos de cadena simple.

Cada cadena pesada tiene en un extremo un dominio variable (VH) seguido por un número de dominios constante. Cada cadena ligera tiene un dominio variable en un extremo (VL) y un dominio constante en su otro extremo; el dominio constante de la cadena ligera se alinea con el primer dominio constante de la cadena pesada, y el dominio variable de cadena ligera se alinea con el dominio variable de la cadena pesada. Dentro de las cadenas ligera y pesada, las regiones variable y constante se unen por una región "J" de alrededor de 12 o más aminoácidos, con la cadena pesada que incluye también una región "D" de alrededor de 10 aminoácidos más. Las cadenas de anticuerpo todas muestran las mismas estructuras generales de las regiones de estructura principal relativamente conservadas (FR) unidas por las tres regiones hiper-variables, también denominadas regiones que determinan la complementariedad de los CDR. Los CDR de las dos cadenas de cada par se alinean por las regiones de estructura principal, permiten la unión aun epítope específico. A partir de la N-terminal a C-terminal, ambas cadenas ligera y pesada comprenden los dominios FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4.

Un anticuerpo intacto tiene dos sitios de unión y,

excepto en los anticuerpos bifuncionales o biespecíficos, los dos sitios de unión son los mismos. Un anticuerpo bioespecífico o bifuncional es un anticuerpo híbrido artificial que tiene dos diferentes pares de cadenas pesada/ligera dos diferentes sitios de unión. Los anticuerpos biespecíficos pueden producirse por una variedad de métodos que incluyen fusión de hibridomas o enlace de fragmentos Fab'.

Como se utiliza en la presente, el término "anticuerpo monoclonal" se refiere a un anticuerpo obtenido a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos excepto por las mutaciones de origen natural posibles que pueden estar presentes en cantidades menores. Los anticuerpos monoclonales son altamente específicos, se dirigen nuevamente a un sitio antigénico simple. En contraste a las preparaciones de anticuerpo policlonal, las cuales incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítopes), cada anticuerpo monoclonal se dirige contra un determinante simple en el antígeno.

Un "anticuerpo neutralizante" es una molécula de anticuerpo que es capaz de eliminar o reducir significativamente una función efectora de un antígeno objetivo al cual se une.

Los fragmentos de unión de anticuerpo pueden producirse por escisión enzimática o química de los anticuerpos intactos La digestión de anticuerpos con la enzima papaína resulta en dos fragmentos de unión de antígeno idénticos, también conocidos como fragmentos "Fab", y un fragmento "Fc" el cual no tiene actividad de unión de antígeno. La digestión de anticuerpos con la enzima pepsina resulta en un fragmento $F(ab')_2$ en el cual los dos brazos de la molécula de anticuerpo permanecen enlazados y comprenden dos sitios de enlace de antígeno. El fragmento $F(ab')_2$ tiene la capacidad de reticular el antígeno.

El término "Fab" se refiere a un fragmento de un anticuerpo que comprende el dominio constante de la cadena ligera y el dominio CH1 de la cadena pesada. El término "Fv" cuando se utiliza en la presente se refiere al fragmento mínimo de un anticuerpo que retiene tanto los sitios de reconocimiento de antígeno como de unión de antígeno. En una especie Fv de dos-cadena, esta región consiste de un dímero de una cadena pesada y una cadena ligera de dominio variable en asociación no covalente. En una especie Fv de cadena simple, un dominio variable de cadena pesada y uno de cadena ligera pueden unirse covalentemente por un enlazador de péptido flexible de tal manera que la cadenas pesada y ligera pueden asociarse en una estructura "dimérica" análoga a aquella en una especie Fv de dos cadenas. Se encuentra en

esta configuración que las tres CDR de cada dominio variable interactúan para definir un sitio de enlace de antígeno sobre la superficie del dímero VH-VL. Aunque los seis CDR, colectivamente, confieren especificidad de unión de antígeno al anticuerpo, incluso un dominio variable simple (o mitad de un Fv comprende sólo tres CDR específicos para un antígeno) tiene la capacidad de reconocer y unir los antígeno.

El término "regiones determinantes de complementariedad" o "CDR" se refiere a las partes de receptores inmunológicos que hacen contacto con el ligando específico y determinan su especificidad. El término "región hipervariable" se refiere a los residuos de aminoácidos de un anticuerpo el cual es responsable de la unión de antígeno.. La región hipervariable generalmente comprende residuos de aminoácidos de una "región determinante de complementariedad" o "CDR" y/o aquellos residuos de un "bucle hipervariable".

Como se utiliza en la presente, el término "epítope" se refiere a sitios de unión para anticuerpos en antígenos de proteína. Los determinantes epítopes usualmente consisten de agrupaciones de superficie químicamente activa de moléculas tales como aminoácidos o cadenas laterales de azúcar, así como también características estructurales y de carga tridimensionales específicas. Un anticuerpo une un antígeno cuando la disociación constante es $\leq$ 1 µM, de preferencia $\leq$ 100 nM, y de mayor preferencia $\leq$ 10 nM. Un

equilibrio incrementado constante ("K_D") significa que existe menos afinidad entre el epítope y el anticuerpo, mientras que un equilibrio disminuido constante significa que existe una mayor afinidad entre el epítope y el anticuerpo. Un anticuerpo con un K_D de "no más de" una cierta cantidad significa que el anticuerpo se une al epítope con el K_D determinado o más fuerza. Mientras que K_D describe las características de unión de un epítope y un anticuerpo, la "potencia" describe la efectividad del anticuerpo mismo para una función del anticuerpo. No es necesaria una correlación entre una constante de equilibrio y potencia; por lo tanto, por ejemplo, un K_D relativamente bajo no significa automáticamente una alta potencia.

El término "se une selectivamente" con referencia a un anticuerpo no significa que el anticuerpo sólo se una a una sustancia simple, sino más bien que K_D del anticuerpo a una primera sustancia es menor que K_D del anticuerpo a una segunda sustancia. Un anticuerpo que se une exclusivamente a un epítope sólo se une a ese epítope simple.

Cuando se administra a humanos, los anticuerpos que contienen regiones variables y/o constantes de roedores (murinos o ratas) algunas veces se asocian con, por ejemplo, un espacio libre rápido del cuerpo o la generación de una respuesta inmune por el cuerpo contra el anticuerpo. Para evitar la utilización de anticuerpos derivados de roedores,

los anticuerpos completamente humanos pueden generarse a través de la introducción de funciones de anticuerpo humano en un roedor de modo que el roedor produce anticuerpos completamente humanos. A menos que se identifique específicamente en la presente, anticuerpos "humanos" "completamente humanos" pueden utilizarse intercambiablemente en la presente. El término "completamente humanos" puede ser útil cuando se distinguen los anticuerpos que son sólo parcialmente humanos de aquellos que son completa o totalmente humanos. El técnico con experiencia está consciente de los diversos métodos para generar anticuerpos completamente humanos.

Con el fin de solucionar las respuestas de anticuerpos humanos anti-ratón posibles, pueden utilizarse anticuerpos quiméricos o de otra forma humanizados. Los anticuerpos quiméricos tienen una región contantes humana y una región variable murina, y, como tal, la respuestas de anticuerpo humano anti-quimérico pueden observarse en algunos pacientes. Por lo tanto, es ventajoso proporcionar anticuerpos completamente humanos contra enzimas multiméricas para evitar posibles respuestas de anticuerpo humano anti-ratón o anticuerpo humano anti-quimérico.

Pueden prepararse anticuerpos monoclonales completamente humanos, por ejemplo, por la generación de líneas celulares de hibridoma por técnicas conocidas por el

técnico con experiencia. Otros métodos de preparación implican el uso de secuencias que codifican anticuerpos particulares para la transformación de una célula huésped de mamífero adecuada, tal como una célula CHO. La transformación puede ser por cualquier método conocido para introducir polinucleótidos en una célula huésped, que incluye, por ejemplo, empaquetar el polinucleótido en un virus (o en un vector viral) y transducir una célula huésped con el virus (o vector) o por procedimientos de transfección conocidos en el arte. Los métodos para introducir polinucleótidos heterólogos en células de mamífero se conocen bien en el arte e incluyen transfección mediada por dextrano, precipitación de fosfato de calcio, transfección mediada por polibreno, fusión de protoplasto, electroporación, encapsulación del o los polinucleótidos en liposomas, y microinyección directa de ADN en los núcleos. Líneas celulares de mamífero disponibles como huéspedes para la expresión se conocen bien en el arte e incluyen, pero no se limitan a células CHO, células HeLa, y células de carcinoma hepatocelular humano.

Los anticuerpos pueden utilizarse en forma de diagnóstico y/o terapéuticamente. Por ejemplo, los anticuerpos pueden utilizarse como un diagnóstico al detectar el nivel de uno o más péptidos de la invención en un sujeto, y ya que se comparen los niveles detectados al nivel de control estándar o a un nivel de línea base en un sujeto

previamente determinado (por ejemplo, antes de cualquier enfermedad). Los anticuerpos pueden utilizarse como un elemento terapéutico para modular la actividad de uno o más péptidos de la invención, teniendo así un efecto sobre un padecimiento o trastorno.

La invención proporciona equipos que incluyen, pero no limitan a, secuencias de péptidos de la invención, opcionalmente en combinación con uno o más agentes terapéuticos, composiciones y composiciones farmacéuticas del mismo, empaquetados en un material de empaque adecuado. Un equipo opcionalmente incluye una etiqueta o inserción de empaque que incluye una descripción de los componentes o instrucciones para su uso *in vitro, in vivo,* o *ex vivo,* de los componentes en el mismo. Instrucciones ejemplares incluyen instrucciones para reducir o disminuir la glucosa en sangre, tratamiento de hiperglicemia, tratamiento de diabetes, etc.

El equipo puede contener una colección de tales componentes, por ejemplo, dos o más secuencias de péptidos solas o una combinación de una secuencia de péptidos con otra composición terapéuticamente útil (por ejemplo, un fármaco anti-diabético, tal como un compuesto de gastrina).

El término "material de empaque" se refiere a una estructura física que aloja los componentes del equipo. El material de empaque puede mantener los componentes en forma

estéril, y puede elaborarse de material comúnmente utilizado para tales propósitos (por ejemplo, papel, fibra corrugada, vidrio, plástico, papel aluminio, ampolletas, frascos, tubos, etc.).

Los equipos de la invención pueden incluir etiquetas o inserciones. Las etiquetas o inserciones incluyen "material impreso", por ejemplo, papel o cartón, separado o pegado a un componente, un equipo o material de empaque (por ejemplo, una caja), o conectado a, por ejemplo, una ampolleta, tubo o frasco que contiene un componente del equipo. Las etiquetas o inserciones pueden incluir adicionalmente un medio legible por computadora, tal como un disco (por ejemplo, disco duro, tarjeta, disco de memoria), disco óptico tal como CD o DVD-ROM/RAM, DVD, MP3, cinta magnética, o un medio de almacenamiento eléctrico tal como RAM y ROM o híbridos de éstos tal como medio de almacenaje magnético/óptico, medios FLASH o memoria tipo tarjetas.

Las etiquetas o inserciones pueden incluir información de identificación de uno o más componentes en el mismo, cantidades de dosis, farmacología clínica del o los ingredientes activos que incluyen el mecanismo de acción, farmacocinéticas y farmacodinámicas. Las etiquetas o inserciones pueden incluir información que identifica la información del fabricante, números de lote, ubicación del fabricante y fecha.

Las etiquetas o inserciones pueden incluir información sobre un padecimiento, trastorno, enfermedad o síntoma para el cual puede utilizarse un componente de equipo. Las etiquetas o inserciones pueden incluir instrucciones para el médico o para un sujeto para utilizar uno o más de los componentes del equipo en un método, protocolo de tratamiento o régimen terapéutico. Las instrucciones pueden incluir cantidades de dosis incluidas, frecuencia o duración, e instrucciones para practicar cualquiera de los métodos, protocolos de tratamiento o regímenes terapéuticos establecidos en la presente. Instrucciones ejemplares incluyen las instrucciones para el tratamiento de uso de una secuencia de péptidos como se establece en la presente. Los equipos de la invención por lo tanto pueden incluir adicionalmente etiquetas o instrucciones para practicar cualquiera de los métodos y usos de la invención descritos en la presente que incluyen métodos y usos de tratamiento.

Las etiquetas o inserciones pueden incluir información sobre cualquier beneficio que un componente puede proporcionar, tal como un beneficio profiláctico o terapéutico. Las etiquetas o inserciones pueden incluir información sobre el potencial de efectos secundarios adversos, tal como advertencias al sujeto o médico con respecto situaciones en donde puede no ser apropiado utilizar

una composición particular. Los efectos secundarios adversos también pueden ocurrir cuando tomará o está tomando actualmente uno o más de los medicamentos que pueden ser incompatibles con la composición, o el sujeto experimentará o está experimentando actualmente otro protocolo de tratamiento o régimen terapéutico que puede ser incompatible con la composición y, por lo tanto, las instrucciones pueden incluir información con respecto a tales incompatibilidades.

Los equipos de la invención pueden incluir adicionalmente otros componentes. Cada componente del equipo puede encerrarse dentro de un contenedor individual y todos de los diversos contenedores pueden estar dentro de un solo empaque. Los equipos de la invención pueden diseñarse para almacenar en frío. Los equipos de la invención pueden además diseñarse para contener secuencias de péptidos de la invención, o que contienen ácidos nucleicos que codifican las secuencias de péptidos. Las células en el equipo pueden mantenerse bajo condiciones de almacenamiento apropiadas hasta que estén listas para usarse.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente tienen el mismo significado como se entiende comúnmente por alguien de experiencia ordinaria en la técnica a la cual pertenece esta invención. Aunque los métodos y materiales similares o equivalentes a aquellos descritos en la presente

pueden utilizarse en la práctica o prueba de la invención, se describirán en la presente métodos y materiales adecuados.

Todas las solicitudes, publicaciones, patentes y otras referencias, citas de GenBank y citas de ATCC citadas en la presente se incorporan para referencia en su totalidad. En caso de conflicto, la especificación, incluyendo definiciones tendrá el control. Como se utiliza en la presente, las formas singulares "un", "una", y "el" incluyen referencias en plural a menos que el contexto claramente indique lo contrario. Por lo tanto, para el ejemplo, se hace referencia a "una secuencia de péptidos" o un "tratamiento", incluye una pluralidad de tales secuencias, tratamientos, etc.

Como se utiliza en la presente, los valores numéricos a menudo se encuentran presentes en un formato de margen a través de este documento. El uso de un formato de margen es meramente para conveniencia y brevedad y no debe interpretarse como una limitación inflexible sobre el alcance de la invención a menos que el contexto claramente indique lo contrario. Por consiguiente, el uso de un margen expresamente incluye todos los submárgenes posibles, todos los valores numéricos individuales dentro de este margen, y todos los valores numéricos o márgenes numéricos que incluyen números enteros dentro de tales márgenes y fracciones de los valores o los números enteros dentro de los márgenes a menos que el

contexto claramente indique lo contrario. Esta construcción aplica independientemente de la amplitud del margen y en todos los contextos a través de este documento de patente. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a un margen de 90-100% incluye 91-99%, 92-98%, 93-95%, 91-98%, 91-97%, 91-96%, 91-95%, 91-94%, 91-93%, etc. La referencia a un margen de 90-100% también incluye 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 95%, 97%, etc., así como también 91.1%, 91.2%, 91.3%, 91.4%, 91.5%, etc., 92.1%, 92.2%, 92.3%, 92.4%, 92.5%, etc., etc..

Además, la referencia a un margen de 1-3, 3-5, 5-10, 10-20, 20-30, 30-40, 40-50, 50-60, 60-70, 70-80, 80-90, 90-100, 100-110, 110-120, 120-130, 130-140, 140-150, 150-160, 160-170, 170-180, 180-190, 190-200, 200-225, 225-250 incluye 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, etc. En un ejemplo adicional, la referencia a un margen de 25-250, 250-500, 500-1000, 1000-2500 ó 2500-5000, 5000-25,000, 5000-50,000 incluye cualquier valor numérico o margen dentro o que abarca tales valores, por ejemplo, 25, 26, 27, 28, 29...250, 251, 252, 253, 254....500, 501, 502, 503, 504..., etc.

Como se utiliza también en la presente una serie de márgenes se describe a través de este documento. El uso de una serie de márgenes incluye combinaciones de los márgenes superior e inferior para proporcionar otro margen. Esta construcción se aplica independientemente de la amplitud del

margen y en todos los contextos a través de este documento de patente. Por lo tanto, por ejemplo, se hace referencia a una serie de márgenes tales como 5-10, 10-20, 20-30, 30-40, 40-50, 50-75, 75-100, 100-150, incluye márgenes tales como 5-20, 5-30, 5-40, 5-50, 5-75, 5-100, 5-150, y 10-30, 10-40, 10-50, 10-75, 10-100, 10-150, y 20-40, 20-50, 20-75, 20-100, 20-150, etc.

Para concisión, ciertas abreviaturas se utilizan en la presente. Un ejemplo son las abreviaturas de una sola letra para representar residuos de aminoácidos. Los aminoácidos y sus tres letras correspondientes y las abreviaturas de una sola letra son como sigue:

alanina	Ala	(A)
arginina	Arg	(R)
asparagina	Asn	(N)
ácido aspártico	Asp	(D)
cisteína	Cys	(C)
ácido glutámico	Glu	(E)
glutamina	Gln	(Q)
glicina	Gly	(G)
histidina	His	(H)
isoleucina	Ile	(I)
leucina	Leu	(L)
lisina	Lys	(K)

metionina	Met	(M)
fenilalanina	Phe	(F)
prolina	Pro	(P)
Serina	Ser	(S)
treonina	Thr	(T)
triptofán	Trp	(W)
tirosina	Tyr	(Y)
valina	Val	(V)

La invención se describe generalmente en la presente utilizando un lenguaje afirmativo para describir las numerosas modalidades. La invención también incluye específicamente modalidades en la cuales la materia objeto particular se excluye, en todo o en parte, tal como las sustancias o materiales, método de etapas y condiciones, protocolos, procedimientos, ensayos o análisis. Por lo tanto, incluso la invención no se expresa generalmente en la presente en términos de lo que la invención no incluye, aspectos que no se incluyen expresamente en la invención sin embargo se describen en la presente.

Se ha descrito un número de modalidades de la invención. En consecuencia, se entenderá que pueden hacerse diversas modificaciones sin apartarse del espíritu y alcance de la invención. Por consiguiente, los siguientes ejemplos se

pretenden para ilustrar pero no para limitar el alcance de la invención descrita en las reivindicaciones.

Ejemplos

Ejemplo 1

Lo siguiente es una descripción de diversos métodos y materiales utilizados en los estudios en la presente.

Animales. Se compraron ratones *db/db* de The Jackson Laboratory (Bar Habor, ME), los ratones se mantuvieron de acuerdo con las líneas guía de bienestar bajo luz controlada (ciclos de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, oscuridad 6:30 pm-6:30 am), condiciones de temperatura (22±4°C) y humedad (50%±20%). Tuvieron libre acceso al agua (agua destilada en autoclave) y se alimentaron *ad libitum* con una dieta comercial (Harlan Laboratories, Indianapolis, EN, Irradiated 2018 Teklad Global 18% Protein Rodent Diet) que contienen 17% % de kcal de grasas, 23% de kcal de proteínas y 60% de kcal de carbohidratos. Para la obesidad inducida por dieta, se mantuvieron los ratones C57BL6/J (Jackson Laboratory) en una dieta alta en grasas (D 12492, Research Diet, New Brunswick, NJ. USA) que contiene 60% de kcal de grasas, 20% de kcal de proteínas y 20% de kcal de carbohidratos durante 16-20 semanas. Todos los estudios con animales fueron aprobados por NGM del Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales.

ADN y las secuencias de aminoácidos. ADNc de ORF que codifica variantes de FGF19 humano (Homo sapiens FGF19, GenBank Accession No. NM_005117.2).

La secuencia de proteína codificada por el ADNc (No. de Acceso de GenBank. NP 005108.1) **PCR.** ORF de FGF19 se amplificó con la reacción en cadena de polimerasa (PCR) utilizando ADN recombinante (ADNc) preparado a partir del tejido del intestino delgado humano. Los reactivos de PCR se equipan con Fusión de polimerasa de ADN de alta fidelidad se compraron de New England BioLabs (F-530L, Ipswich, MA). Se utilizaron los siguientes cebadores: cebador PCR directo: 5′ CCGACTAGTCACCatgcggagcgggtgtgtgg y cebador PCR inverso primer: 5′ ATAAGAATGCGGCCGCTTACTTCTCAAAGCTGGGACTCCTC.

El fragmento de ADN amplificado se digirió con enzimas de restricción Spe I y Not I (los sitios de restricción se incluyeron en los cebadores PCR 5′ ó 3′, respectivamente) y luego se ligaron con los vectores de transgen AAV que se han digerido con las mismas enzimas de restricción. El vector utilizado para la expresión contenía un marcador seleccionable y casete de expresión compuesto de un promotor 5′ eucariótico de un sitio para la inserción de las secuencia de codificación clonada, seguida por una región 3′ sin traducir y cola de poliadenilación de la horma de crecimiento bovino. La construcción de expresión también se

flanquea por repeticiones de terminal interna en los extremos 5′ y 3′.

Producción y purificación de AAV. Las células AAV293 (obtenidas a partir de Agilent Technologies, Santa Clara, CA) se cultivaron en una Modificación de Dulbeco del Medio de Eagle (DMEM, Mediatech, Inc. Manassas, VA) suplementadas con 10% de suero de bovino fetal y 1x de solución antiótica-antimicótica (Mediatech, Inc. Manassas, VA). Las células se colocaron en placas a 50% de densidad el día 1 en placas de cultivo de células de 150 mm y se transfectaron el día 2, utilizando método de precipitación de fosfato de calcio con los siguientes 3 plásmidos (20 µg/placa de cada uno): plásmido de transgen de AAV, plásmidos de pHelper (Agilent Technologies) y plásmido de AAV2/9 (Gao et al., *J. Virol.* 78:6381 (2004)). Se rasparon 48 horas después de la transfección, las células de las placas, se granularon por centrifugación al 3000xg y se resuspendieron en un regulador que contiene Tris 20 mM de pH 8.5, Nacl 100 mM y $MgCl_2$ 1 mM. La suspensión se congeló en un baño de hielo seco y alcohol y después se descongeló en un baño de agua 37°C. Los ciclos de congelación y descongelación se repitieron tres veces; se agregó Benzenasa (Sigma-aldrich, St. Louis, MO) a 50 unidades/ml; se agregó desoxicolato a una concentración final de 0.25%. Después de la incubación a 37°C durante 30 minutos, desechos celulares se desprendieron por

centrifugación a 5000 x g durante 20 minutos. Las partículas virales del sobrenadante se purificaron utilizando un gradiente de iodixanal descontinuado (Sigma-aldrich, St. Louis, MO) como se describe (Zolotukhin S. et al (1999) *Gene Ther.* 6:973). El material viral se concentró utilizando Vivaspin 20 (MW cutoff 100,000 Dalton, Sartorius Stedim Biotech, Aubagne, France) y se suspendió en una solución salina regulada con fosfato (PBS) con 10% de glicerol y almacenada a -80°C. Para determinar el número de copia de genoma viral, se incubaron 2 µl del material viral en 6 µl de solución que contiene 50 unidades/ml de Benzonaso, Tris-HCl 50 mM pH 7.5, $MgCl_2$ 10 mM y $CaCl_2$ 10 mM a 37°C durante 30 minutos.

Posteriormente, se agregaron 15 µl de la solución que contiene 2 mg/ml de Proteinasa K, 0.5% de SDS y EDTA 25 mM y la mezcla se incubó durante 20 minutos adicionales a 55°C para la liberación de ADN viral. El ADN viral se limpió con mini DNeasy Kit (Qiagen, Valencia, CA) y se eluyó con 40 µl de agua. Se determinó la copia de genoma viral (GC) al utilizar PCR cuantitativo.

El material viral se diluyó con PBS has GC/ml deseable. La solución del trabajo viral (200 µl) se suministró en ratones mediante la inyección en la vena de la cola.

Ensayo de glucosa en sangre. La glucosa en sangre

en pedazo de cola del ratón se midió utilizando las tiras de prueba ACCU-CHEK Active leídas por el medidor de ACCU-CHEK Active (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN) siguiendo la instrucción del fabricante.

Ensayo del perfil de lípidos. La sangre completa de los pedacitos de cola del ratón se recolectaron en tubos capilares (BD Clay Adams SurePrep, Becton Dickenson y Co. Sparks, MD). El suero y las células sanguíneas se separaron al girar los tubos en un Autocrit Ultra 3 (Becton Dickinson y Co. Sparks, MD). Las muestras de suero se analizaron para el perfil de lípidos (triglicéridos, colesterol total, HDL, y sin HDL) utilizando el Analizador Clínico Integra 400 (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Ensayo del nivel de exposición del suero FGF19/FGF21/variantes. La sangre completa (aproximadamente 50 µl/ratón) de los pedacitos de cola del ratón se recolectaron en tubos capilares simples (BD Clay Adams SurePrep, Becton Dickenson y Co. Sparks, MD). El suero y las células de sangre se separaron al hacer girar los tubos en un Autocrit Ultra 3 (Becton Dickinson y Co. Sparks, MD). FGF19, FGF21, y niveles de exposición variantes en suero se determinaron utilizando los equipos EIA (Biovendor) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Ensayo de carcinoma hepatocelular (HCC). La muestra

de hígado se cosechó de ratones *db/db* 6 meses después de la inyección AAV. La puntuación de HCC se registró como el número de nódulos de HCC en la superficie de todo el hígado de ratones inyectados con variantes dividida por el número de nódulos de HCC con ratones inyectados con FGF19 de tipo silvestre.

Ensayo de expresión de gen del hígado. La muestra de hígado se cosechó y se homogenizó en un reactivo de Trizol (Invitrogen). El ARN total se extrajo siguiendo las instrucciones del fabricante. El ARN se trató con DNase (Ambion) seguida por un análisis de RT-PCR cuantitativo utilizando los cebadores Taqman y reactivos de Applied Biosystems. Los niveles de ARNm relativos de aldo-ceto reductasa y slcla2 en el hígado se calcularon utilizando el método ΔΔCt.

Ensayos de enlace y actividad de FGFR4. ELISA en fase sólida (aglutinante) y el ensayo de fosforilación de ERK se realizaron utilizando proteínas recombinantes purificadas. El ensayo de enlace de FGFR se condujo utilizando ELISA en fase sólida. Brevemente, la placa de 96 pozos se recubrió con 2 ug/ml de anticuerpo anti-hFc y se incubó con 1 ug/ml FGFR1-hFc o FGFR4-hFc. Se detectó la unión a las variantes FGF19 en la presencia de 1 ug/ml soluble deb-cloto y 20 ug/ml de heparina por anticuerpos anti-FGF19 biotinilados (0.2ug/mL), seguido por la incubación de estreptavidin-HRP (100ng/mL).

Para ensayo de activación de FGFR4, se estimularon las células Hep3B con las variantes FGF19 durante 10 minutos a 37C, después se lisaron inmediatamente y se sometieron a ensayo para fosforilación de ERK utilizando un equipo comercialmente disponible de Cis-Bio.

Ejemplo 2

Lo siguiente es una descripción de los estudios que muestran la actividad de disminución de glucosa de diversas variantes de secuencia de FGF19 y FGF21, y los constructos de fusión de FGF19/FGF21.

La Figura 2 ilustra los constructos de fusión de FGF19 FGF21 ejemplares, y los segmentos de cada uno de los FGF19 y FGF21 presentes en los péptidos de fusión. Estos péptidos se analizaron por la actividad de disminución de glucosa y lípido estadísticamente significativo que eleva o incrementa la actividad (Tablas 1-8 y Figura 1).

Se inyectaron los ratones (*db/db*) con el vector viral que expresa FGF19, FGF21 o variantes, y se analizó después de la inyección. La actividad de disminución de glucosa de cada secuencia se representó por un símbolo "+" (un símbolo "-" significa sin actividad de disminución de glucosa, un símbolo "+/-"significa las variantes conservan la actividad de disminución de glucosa mínima); la actividad de elevación de lípidos se representa por un símbolo "+" (un

símbolo "-" significa sin actividad de elevación de lípidos, un símbolo "+/-" significa que las variantes mantienen la actividad de elevación de lípidos mínima, Figura 2).

Dos fusiones de FGF21 y FGF19, indican la variante M5 y la variante 45 (M45), mostró actividad de disminución de glucosa y una ausencia de actividad de elevación o incremento de lípidos estadísticamente significativos. Las variantes indicadas M1, M2 y M69, respectivamente (Figura 1, también muestran actividad de disminución de glucosa (Figuras 3B y 3C, Tabla 5). Los datos comparan la actividad de disminución de glucosa de M5, M1, M2 y M69 y la actividad de elevación o incremento de lípidos para FGF19 y FGF21 se ilustran en las Figuras 3A-3C y 4A-4C.

Ejemplo 3

La siguiente es una descripción de estudios que muestran que las variantes M5, M1, M2 y M69 no son tumorigénicas, como se determina por la formación de carcinoma hepatocelular (HCC), y que las variantes M5, M2 y M69 también tampoco reducen la masa magra y la masa grasa.

Los animales (*db/db*) se inyectaron con los vectores AAV que expresan FGF19, FGF21, M5, M1, M2, o M69, o se inyectan con solución salina, y se analizan 6 meses después de la inyección. Los datos indicaron que las variantes M5, M1, M2, y M69 no inducen la formación (HCC)

significativamente (Figuras 5A-5C).

Los animales (ratones *db/db*) también se inyectaron con un vector viral que expresa FGF19, FGF21, M5, M1, M2 o M69, o se inyectan con solución salina y se analizaron 6 meses después de la inyección para el efecto en la masa magra y la masa grasa. Los datos indican que los péptidos M5, M2 y M69 no provocaron una reducción estadísticamente significativa en la masa magra o masa grasa, en contraste con FGF21, y el péptido M1 reduce la masa magra (Figuras 6A-6C).

Ejemplo 4

El siguiente es un resumen de datos de 25 péptidos variantes adicionales analizados para la actividad de elevación de lípidos y tumorigénesis. Los datos claramente muestran una correlación positiva entre la elevación de lípidos y tumorigénesis, como se determina por la formación de carcinoma hepatocelular (HCC) en ratones *db/db*.

Las Tablas 1 a 3 resumen los datos para 26 diferentes péptidos variantes. Tales péptidos variantes ejemplificados tienen una secuencia C-terminal de FGF19: PHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKM QGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPML PMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK en la porción de C-terminal, por ejemplo, después de los residuos de aminoácidos "TSG". Notablemente, péptidos variantes (7 en

total, incluyendo M5) no provocaron una elevación estadísticamente significativa de lípidos ni indujeron formación de carcinoma hepatocelular (HCC). En contraste, todos los péptidos variantes (17 en total) que provocaron una elevación estadísticamente significativa de lípidos también provocaron formación de carcinoma hepatocelular (HCC) en ratones. Estos datos indican que existe una fuerte correlación positiva entre la actividad de elevación de lípidos y la formación de carcinoma hepatocelular (HCC). Por consiguiente, la actividad de elevación de lípidos puede utilizarse como un indicador y/o factor de predicción de la formación de carcinoma hepatocelular (HCC) en animales.

Tabla 1: Triglicéridos y Colesterol Elevados en los Ratones *db/db* Parece que se Correlacionan Positivamente Con la Formación de HCC.

	Dominio N- terminal	Núcleo	Elevación de Lípidos	Formación de HCC
FGF19	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPI	RLRHLYTSG	+	+
FGF21	HPIPDSSPLLQ--FGGQV	RQRYLYTDD	-	-
M5	R-HPIPDSSPLLQ--FGGQV	RLRHLYTSG	-	-
M74	R----------DAGPHVHYGWGDPI	RLRHLYTSG	+	+
M75	R----------VHYGWGDPI	RLRHLYTSG	-	-
M76	R----------GDPI	RLRHLYTSG	-	-
M77	R----------	RLRHLYTSG	-	-
M78	R----------AGPHVHYGWGDPI	RLRHLYTSG	+	+
M79	R----------GPHVHYGWGDPI	RLRHLYTSG	+	+
M80	R----------PHVHYGWGDPI	RLRHLYTSG	-	-
M81	R----------HVHYGWGDPI	RLRHLYTSG	-	-

Tabla 2: Triglicéridos y Colesterol Elevados en Ratones *db/db* Parece que se Correlacionan Positivamente con la Formación de Formación de HCC

	Dominio N- terminal	Núcleo	Elevación de Lípidos	Formación de HCC
FGF19	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPI	RLRHLYTSG	+	+
FGF21	HPIPDSSPLLQ--FGGQV	RQRYLYTDD	-	-
M82	RPLAFSAAGPHVHYGWGDPI	RLRHLYTSG	+	+
M83	RPLAFSDAAPHVHYGWGDPI	RLRHLYTSG	+/-	+/
M84	RPLAFSDAGAHVHYGWGDPI	RLRHLYTSG	+/-	+/
M85	RPLAFSDAGPHVHYGAGDPI	RLRHLYTSG	-	-
M86	RPLAFSDAGPHVHYGWGAPI	RLRHLYTSG	+	+
M87	RPLAFSDAGPHVHYGWGDAI	RLRHLYTSG	+	+

Tabla 3: Triglicéridos y Colesterol Elevados en los Ratones *db/db* Parece que se Correlacionan Positivamente Con la Formación de HCC.

	Dominio N-terminal	Núcleo	Elevación de Lípidos	Formación de HCC
FGF19	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPI	RLRHLYTSG	+	+
FGF21	HPIPDSSPLLQ--FGGQV	RQRYLYTDD	-	-
H31A/S141A(M88)		FGF19	+	+
H31A/H142A(M89)		FGF19	+	+
K127A/R129A(M90)		FGF19	+	+
K127A/S141A(M91)		FGF19	+	+
K127A/H142A(M92)		FGF19	+	+
R129A/S141A(M93)		FGF19	+	+
S141A/H142A(M94)		FGF19	+	+
K127A/H142A(M95)		FGF19	+	+
K127A/R129A/S141A(M97)		FGF19	+	+
K127A/R129A/H142A(M98)		FGF19	+	+
K127A/R129A/S141A/H142A(M99)		FGF19	+	+

Ejemplo 5

Lo siguiente es un resumen de datos de los péptidos

de variante de FGF19 adicional analizados para la actividad de disminución de glucosa y la actividad de elevación de lípidos.

La Tabla 4 ilustra el péptido "secuencias de núcleo" de 35 variantes de FGF19 adicionales, indicadas por M5 a M40. Tales péptidos de variantes ejemplificados tienen una secuencia C-terminal de FGF19, PHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKM QGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPML PMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK en la porción C-terminal, por ejemplo, después de los residuos de aminoácidos de "TSG" de la secuencia de núcleo. Los datos claramente muestran que las variantes M6, M7, M8, mM38 y M39 tienen las características deseadas de actividad de disminución de glucosa y una actividad de elevación de lípidos no estadísticamente significativa en ratones *db/db*.

Tabla 4: Variantes Adicionales y Mapeo Fino del Dominio de N-terminal

	Dominio N- terminal	Núcleo	Disminuación de Glucosa	Elevación de Lípidos
FGF19	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPI	RLRHLYTSG	+	+
FGF21	HPIPDSSPLLQ--FGGQV	RQRYLYTDD	+	-
M5	R-HPIPDSSPLLQ--FGGQV	RLRHLYTSG	+	-
M6	R-------DSSPLLQ--FGGQV	RLRHLYTSG	+	-
M7	RPLAFSDSSPLLQ--FGGQV	RLRHLYTSG	+	-
M8	R-HPIPDSSPLLQ--WGDPI	RLRHLYTSG	+	-
M9	R-HPIPDSSPLLQFGWGDPI	RLRHLYTSG	+	+
M10	R-HPIPDSSPHVHYGWGDPI	RLRHLYTSG	-	+
M11	RPLAFSDAGPLLQ--WGDPI	RLRHLYTSG	N/D	N/D
M12	RPLAFSDAGPLLQFGWGDPI	RLRHLYTSG	-	+
M13	RPLAFSDAGPLLQ--FGGQV	RLRHLYTSG	-	-
M14	R-HPIPDSSPHVHYG--GQV	RLRHLYTSG	-	-
M15	RPLAFSDAGPHVHYG--GQV	RLRHLYTSG	+	+
M16	RPLAFSDAGPHVH--WGDPI	RLRHLYTSG	N/D	N/D
M17	RPLAFSDAGPHV--GWGDPI	RLRHLYTSG	N/D	N/D
M18	RPLAFSDAGPH--YGWGDPI	RLRHLYTSG	N/D	N/D
M19	RPLAFSDAGP-V-YGWGDPI	RLRHLYTSG	N/D	N/D
M20	RPLAFSDAGP-VH-GWGDPI	RLRHLYTSG	N/D	N/D
M21	RPLAFSDAGP-VHY-WGDPI	RLRHLYTSG	N/D	N/D
M22	RPLAFSDAGPHVH-GWGDPI	RLRHLYTSG	N/D	N/D
M23	RPLAFSDAGPH-H-GWGDPI	RLRHLYTSG	N/D	N/D
M24	RPLAFSDAGPH-HY-WGDPI	RLRHLYTSG	N/D	N/D
M25	RPLAFSDAGPHV-Y-WGDPI	RLRHLYTSG	N/D	N/D
M26	RPLAFSDSSPLVH--WGDPI	RLRHLYTSG	N/D	N/D
M27	RPLAFSDSSPHVH--WGDPI	RLRHLYTSG	N/D	N/D
M28	RPLAFSDAPHV---WGDPI	RLRHLYTSG	N/D	N/D
M29	RPLAFSDAGPHVHY-WGDPI	RLRHLYTSG	N/D	N/D
M30	RPLAFSDAGPHVHYAWGDPI	RLRHLYTSG	N/D	N/D
M31	R-HPIPDSSPLLQ--FGAQV	RLRHLYTSG	+/-	-
M32	R-HPIPDSSPLLQ--FGIYQV	RLRHLYTSG	-	-
M33	R-HPIPDSSPLLQ--FGGQV	RLRHLYTSG	-	-
M34	R-HPIPDSSPLLQ--FG7AV	RLRHLYTSG	+/-	-
M35	R-HPIPDSSPLLQ--FGGEV	RLRHLYTSG	+/-	+/
M36	R-HPIPDSSPLLQ--FGGQV	RLRHLYTSG	+/-	-
M37	R-HPIPDSSPLLQ--FGGUA	RLRHLYTSG	-	-
M38	R-HPIPDSSPLLQ--FGGQT	RLRHLYTSG	+	-
M39	R-HPIPDSSPLLQ--FGGQT	RLRHLYTSG	+	-
M40	R-HPIPDSSPLLQFGWGQPO	RLRHLYTSG	-	+

5

Tabla 4a:

	Dominio N-terminal / Núcleo	Disminución de Glucosa	Elevación de Lípidos	Formación de HCC
FGF19	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPI RLRHLYTSG	+	+	+
FGF21	HPIPDSSPLLQ--FGGQV RQRYLYTDD	+	-	-
M5	R-HPIPDSSPLLQ--FGGQV RLRHLYTSG	+	-	-
M9	R-HPIPDSSPLLQFGWGDPI RLRHLYTSG	+	+	+
M8	R-HPIPDSSPLLQ--WGDPI RLRHLYTSG	+	+	+
M12	RPLAFSDAGPLLQFGWGDPI RLRHLYTSG	-	+	+
M10	R-HPIPDSSPHVHYGWGDPI RLRHLYTSG	-	+	+
M13	RPLAFSDAGPLLQ--FGGQV RLRHLYTSG	-	+	+
M15	RPLAFSDAGPHVHYG--GQV RLRHLYTSG	-	-	+/-
M14	R-HPIPDSSPHVHYG--GQV RLRHLYTSG	-	-	+/-
M43	RPLAFSDAGPHVHYG-GD-I RLRHLYTSG	-	-	+/-
M6	R-----DSSPLLQ--FGGQV RLRHLYTSG	+	-	-
M7	RPLAFSDSSPLLQ--FGGQV RLRHLYTSG	+	-	-

Tabla 4b:

	Dominio N- terminal / Núcleo	Disminución de Glucosa	Elevación de Lípidos	Formación de HCC
FGF19	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPI RLRHLYTSG	+	+	+
FGF21	HPIPDSSPLLQ--FGGQV RQRYLYTDD	+	-	-
M5	R-HPIPDSSPLLQ--FGGQV RLRHLYTSG	+	-	-
M31	R-HPIPDSSPLLQ--FGAQV RLRHLYTSG	+	-	+
M32	R-HPIPDSSPLLQ--FGDQV RLRHLYTSG	+	-	-
M33	R-HPIPDSSPLLQ--FGPQV RLRHLYTSG	-	-	+
M34	R-HPIPDSSPLLQ--FGGAV RLRHLYTSG	-	-	+
M35	R-HPIPDSSPLLQ--FGGEV RLRHLYTSG	-	-	+
M36	R-HPIPDSSPLLQ--FGGNV RLRHLYTSG	+	-	+/-
M37	R-HPIPDSSPLLQ--FGGQA RLRHLYTSG	-	-	+
M38	R-HPIPDSSPLLQ--FGGQI RLRHLYTSG	-	-	+
M39	R-HPIPDSSPLLQ--FGGQT RLRHLYTSG	-	-	+
M40	R-HPIPDSSPLLQFGWGQPV RLRHLYTSG	-	+	+

5

Tabla 4c:

	Dominio N-terminal / Núcleo	Disminución de Glucosa	Elevación de Lípidos	Formación de HCC
FGF19	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPI RLRHLYTSG	+	+	+
FGF21	HPIPDSSPLLQ--FGGQV RQRYLYTDD	+	-	-
M5	R-HPIPDSSPLLQ--FGGQV RLRHLYTSG	+	-	-
M52	R-----DSSPLLQ--WGDPI RLRHLYTSG	+	+	-
M54	RPLAFSDAGPLLQ--WGDPI RLRHLYTSG	-	+	+
M55	RPLAFSDAGPH--YGWGDPI RLRHLYTSG	-	+	+
M56	RPLAFSDAGP-V-YGWGDPI RLRHLYTSG	-	+	+
M57	RPLAFSDAGP-VH-GWGDPI RLRHLYTSG	-	+	+
M58	RPLAFSDAGP-VHY-WGDPI RLRHLYTSG	-	+	+
M59	RPLAFSDAGPH-H-GWGDPI RLRHLYTSG	-	+	+
M60	RPLAFSDAGPH-HY-WGDPI RLRHLYTSG	-	+	+
M61	RPLAFSDAGPHV--GWGDPI RLRHLYTSG	-	+	+
M62	RPLAFSDAGPHV-Y-WGDPI RLRHLYTSG	-	+	+
M63	RPLAFSDAGPHVH--WGDPI RLRHLYTSG	+	+	+
M64	RPLAFSDSSPLVH--WGDPI RLRHLYTSG	+	+	+
M65	RPLAFSDSSPHVH--WGDPI RLRHLYTSG	-	+	+
M66	RPLAFSDAGPHLQ--WGDPI RLRHLYTSG	+	+	+
M67	RPLAFSDAGPHV---WGDPI RLRHLYTSG	-	-	+/-
M68	RPLAFSDAGPHVHY-WGDPI RLRHLYTSG	-	+	-
M4	RPLAFSDAGPHVHYAWGDPI RLRHLYTSG	+	+	+
M69	R-----DSSPLVHYGWGDPI RLRHLYTSG	+	+	-
M70	MR----DSSPLVHYGWGDPI RLRHLYTSG	+	+	-
M53	M-----DSSPLVHYGWGDPI RLRHLYTSG	+	+	-

La Tabla 5 ilustra las secuencias de péptidos de 3 variantes de FGF19 adicionales, indicado M1, M2 y M69. Los datos claramente muestran que estas tres variantes tienen las características deseadas de actividad de disminución de glucosa en ratones *db/db* (Figuras 3B y 3C). Estas tres variantes parece que elevan los lípidos en ratones *db/db* Figuras 4B y 4C).

Tabla 5: Variantes Adicionales

M1:RPLAFSDASPHVHYGWGDPIRLPVHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSL LEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEK HRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMD PFGLVTGLEAVRSPSFEK

M2: RPLAFSDSSPLYHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSL LEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEK HRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMD PFGLVTGLEAVRSPSFEK

M69: RDSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKA VALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLP VSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGL VTGLEAVRSPSFEK

Ejemplo 6

Lo siguiente es un resumen de datos que muestra que FGF19 reduce el peso corporal en ratones obesos inducidos por dieta y en ratones *ob/ob*, y actividad de formación de tumor del hígado y peso corporal en ratones *db/db*.

Los ratones se inyectaron con FGF19 o FGF21 en el vector AAV. El peso corporal se registró 4 semanas después de la inyección.

Tabla 6: FGF19 reduce el peso corporal en ratones obesos inducidos por dieta y en ratones *ob/ob*

	Dominio N-terminal	Núcleo	Disminución de Peso Corporal en DIO	Disminución de Peso Corporal en *ob/ob*
FGF19	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPI	RLRHLYTSG	+	+
FGF21	HPIPDSSPLLQ--FGGQV	RQRYLYTDD	+	+

Tabla 7: Correlación de peso corporal y formación de tumor del hígado de FGF19, FGF21 y variantes seleccionadas en ratones *db/db*

	Domnio N-termina / Núcleo	Nódulo de Tumor de Higado	Peso Corporal
FGF19	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPI RLRHLYTSG	+	Incrementado
FGF21	HPIPDSSPLLQ--FGGQV RQRYLYTDD	-	Disminuido
M5	R-HPIPDSSPLLQ--FGGQV RLRHLYTSG	-	Incrementado
M6	R-----DSSPLLQ--FGGQV RLRHLYTSG	-	Disminuido
M32	R-HPIPDSSPLLQ--FGDQV RLRHLYTSG	-	Disminuido
M52	R-----DSSPLLQ--WGDPI RLRHLYTSG	-	Disminuido
M69	R-----DSSPLVHYGWGDPI RLRHLYTSG	-	Incrementado

Ejemplo 7

Lo siguiente es un estudio que muestra que los péptidos variante M5 y variante M69 reducen la glucosa en sangre.

Los ratones (ob/ob) se inyectaron (subcutáneamente) con M5 (0.1 y 1 mg/kg, s.c.) o FGF19 (1 mg/kg, s.c), o variante M69 (0.1 y 1 mg/kg, s.c.) o FGF19 (1 mg/kg, s.c). Los niveles de plasma se midieron en 2, 4, 7, y 24 horas después de la inyección, y los resultados se muestran en la Figura 7. M5 (Figura 7A) y variante M69 (Figura 7B) mostraron efectos de disminución de glucosa como el FGF19 de tipo silvestre.

Ejemplo 8

Este ejemplo describe un estudio que muestra la presión hepática de aldo-ceto reductasa de la familia 1, miembro C18 (Akr1C18) y el portador soluto de la familia 1, miembro 2 (slc1a2) parece que se correlaciona con la actividad de HCC.

Los ratones (*db/db*) se inyectaron con un vector viral que expresa FGF19 (HCC+), FGF21 (HCC-), dN2 (HCC-) o M5 (HCC-), o se inyectaron con GFP. Las muestras del hígado se cosecharon y se analizaron por RT-PCR cuantitativo 2 semanas después de la inyección. Los datos, mostrados en la Figura 8, muestran que la expresión del hígado de Akr1C18 y slc1a2 parece que se correlaciona con la actividad de HCC.

Tabla 8: Resumen de las Variantes FGF19 en el Ensayo de Señalización de Adiposito 3T3L1

Ensayo P-Erk en adipocitos 3T3L1	FGF19	FGF21	M5	M2	M63	M64	M1	M8
Experimento#1:								
Emax	3.67	4.33	3.52	4.19	3.21	3.67	4.24	4.16
EC50 (nM)	0.05	0.65	0.03	0.05	0.92	0.02	0.03	0.03
Experimento#2:								
Emax	4.52	4.83	4.01	5.56	4.17	4.85	5.30	5.34
EC50 (nM)	0.33	1.48	0.14	0.15	0.66	0.12	0.09	0.09
Experimento#3:								
Emax	4.09	4.14	3.74	4.24	3.15	4.15	4.77	4.16
EC50 (nM)	0.16	1.50	0.24	0.14	0.28	0.14	0.07	0.14

REIVINDICACIONES

1. Una secuencia de péptidos quiméricos, caracterizado porque comprende:

a) una región N-terminal que comprende por lo menos siete residuos aminoácidos, la región N-terminal que tiene una primera posición de aminoácido y una última posición de aminoácido, en donde la región N-terminal comprende DSSPL o DASPH; y

b) una región C-terminal comprende una porción de la SEQ ID NO: 99 [FGF19], la región C-terminal que tiene una primera posición de aminoácido y una última posición de aminoácido, en donde la región C-terminal comprende los residuos de aminoácidos 16-29 de la SEQ ID NO: 99 [FGF19], WGDPIRLRHLYTSG, en donde el residuo W corresponde a la primera posición de aminoácido de la región C-terminal.

2. Una secuencia de péptidos quiméricos, caracterizada porque comprende:

a) una región N-terminal que comprende una porción de la SEQ ID NO: 100 [FGF21], la región N-terminal que tiene una primera posición de aminoácido y una última posición de aminoácido, en donde la región N-terminal comprende los residuos de aminoácidos GQV, y en donde el residuo V corresponde a la última posición de aminoácido de la región N-terminal; y

b) una región C-terminal que comprende una porción

de la SEQ ID NO: 99 [FGF19], la región C-terminal que tiene una primera posición de aminoácido y una última posición de aminoácido, en donde la región C-terminal comprende los residuos de aminoácidos 21-29 de la SEQ ID NO: 99 [FGF19], RLRHLYTSG, y en donde el residuo R corresponde a la primera posición de la región C-terminal.

3. Una secuencia de péptidos quiméricos, caracterizada porque comprende:

a) una región N-terminal que comprende una porción de la SEQ ID NO: 100 [FGF21], la región N-terminal que tiene una primera posición de aminoácido y una última posición de aminoácido, en donde la región N-terminal comprende al menos 5 aminoácidos contiguos de la SEQ ID NO: 100 [FGF21] que incluyen los residuos de aminoácidos GQV, y en donde el residuo V corresponde a la última posición de aminoácido de la región N-terminal; y

b) una región C-terminal que comprende una porción de la SEQ ID NO: 99 [FGF19], la región C-terminal que tiene una primera posición de aminoácido y una última posición de aminoácido, en donde la región C-terminal comprende residuos de aminoácidos 21-29 de la SEQ ID NO: 99 [FGF19], RLRHLYTSG, y en donde el residuo R corresponde a la primera posición de la región C-terminal.

4. La secuencia de péptidos de conformidad con la reivindicación 3, caracterizada porque la región N-terminal

comprende al menos 6 aminoácidos contiguos de la SEQ ED NO: 100 [FGF21] que incluyen los residuos de aminoácidos GQV.

5. La secuencia de péptidos de conformidad con la reivindicación 3, caracterizada porque la región N-terminal comprende al menos 7 aminoácidos contiguos de la SEQ ID NO: 100 [FGF21] que incluyen los residuos de aminoácidos GQV.

6. Una secuencia de péptidos, caracterizada porque comprende o consiste de cualquiera de:

a) una variante de frecuencia de factor 19 de crecimiento de fibroblasto (FGF19) que tiene una o más sustituciones, inserciones o supresiones de aminoácidos comparadas con un FGF19 de referencia o de tipo silvestre;

b) una variante de secuencia de factor 21 de crecimiento de fibroblasto (FGF21) que tiene una o más sustituciones, inserciones o supresiones de aminoácidos comparadas con un FGF21 de referencia o de tipo silvestre;

c) una porción de una secuencia de FGF19 fusionada a una porción de una secuencia de FGF21; o

d) una porción de una secuencia de FGF19 fusionada a una porción de una secuencia de FGF21, en donde la o las porciones de secuencia de FGF19 y/o FGF21) tienen una o más sustituciones, inserciones o supresiones de aminoácidos comparadas con un FGF19 y/o FGF21 de referencia o de tipo silvestre.

7. La secuencia de péptidos de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque la secuencia de péptidos tiene aminoácidos amino-terminales 1-16 de la SEQ ID NO: 100 [FGF21] fusionados con aminoácidos carboxi-terminales 21-194 de la SEQ ID NO: 99 [FGF19], o en donde la secuencia de péptidos tiene aminoácidos amino-terminales 1-147 de la SEQ ID NO: 99 [FGF19] fusionados con aminoácidos carboxi-terminales 147-181 de la SEQ ID NO: 100 [FGF21] (M41), o en donde la secuencia de péptidos tiene aminoácidos amino-terminales 1-20 de la SEQ ID NO: 99 [FGF19] fusionados con aminoácidos carboxi-terminales 17-181 de la SEQ ID NO: 100 [FGF21] (M44), o en donde la secuencia de péptidos tiene aminoácidos amino-terminales 1-146 de la SEQ ID NO: 100 [FGF21] fusionados con aminoácidos carboxi-terminales 148-194 de la SEQ ID NO: 99 [FGF19] (M45), o en donde la secuencia de péptidos tiene aminoácidos amino-terminales 1-20 de la SEQ ID NO: 99 [FGF19] fusionados con aminoácidos internos 17-146 de la SEQ ID NO: 100 [FGF21] fusionados con aminoácidos carboxi-terminales 148-194 de la SEQ ID NO: 99 [FGF19] (M46).

8. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con las reivindicaciones 1, 2 ó 6, caracterizada porque la secuencia de péptidos tiene un motivo de secuencia de WGDPI que corresponde a la secuencia de WGDPI de los aminoácidos 16-20 de la SEQ ID NO: 99 [FGF19].

9. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia

de péptidos de conformidad con la reivindicación 8, caracterizada porque la secuencia de péptidos mantiene o incrementa una actividad mediada por FGFR4.

10. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con las reivindicaciones 1, 2 ó 6, caracterizada porque la secuencia de péptidos tiene un motivo de secuencia de WGDPI sustituido, mutado o ausente que corresponde a la secuencia de WGDPI de FGF19 de los aminoácidos 16-20 de FGF19.

11. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con la reivindicación 10, caracterizada porque la secuencia de WGDPI tiene uno o más aminoácidos sustituidos, mutados o ausentes.

12. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con las reivindicaciones 1, 2 ó 6, caracterizada porque la secuencia de péptidos es distinta de una secuencia de la variante FGF que tiene cualquiera de GQV, GDI, WGPI, WGDPV, WGDI, GDPI, GPI, WGQPI, WGAPI, AGDPI, WADPI, WGDAI, WGDPA, WDPI, WGDI, WGDP o FGDPI sustituido para la secuencia de WGDPI de FGF19 en los aminoácidos 16-20.

13. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 ó 6, caracterizada porque la región N-terminal o C-terminal es desde alrededor de 20 a alrededor de 200 residuos de aminoácidos en longitud.

14. La secuencia de péptidos quiméricos de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque la región N-terminal comprende residuos de aminoácidos VHYG, en donde la región N-terminal comprende los residuos de aminoácidos DASPFTVHYG, o en donde la región N-terminal comprende los residuos de aminoácidos DSSPLVHYG.

15. La secuencia de péptidos quiméricos de conformidad con la reivindicación 14, caracterizada porque G corresponde a la última posición de la región N-terminal.

16. La secuencia de péptidos quiméricos de conformidad con las reivindicaciones 1 ó 6, caracterizada porque la región N-terminal comprende residuos de aminoácidos DSSPLLQ, y en donde el residuo Q es la última posición de aminoácido de la región N-terminal.

17. La secuencia de péptidos quiméricos de conformidad con la reivindicación 15 ó 16, caracterizada porque la región N-terminal además comprende: RHPIP, en donde R es la primera posición de aminoácido de la región N-terminal; o HPIP, en donde H es la primera posición de aminoácido de la región N-terminal; o RPLAF, en donde R es la primera posición de aminoácido de la región N-terminal; o PLAF, en donde P es la primera posición de aminoácido de la región N-terminal; o R, en donde R es la primera posición de aminoácido de la región N-terminal.

18. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia

de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 ó 6, caracterizada porque la secuencia de péptidos comprende o consiste de cualquiera de la secuencia de péptidos variante de M1-M98, o una subsecuencia o fragmento de cualquiera de la secuencia de péptidos variante M1-M98.

19. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 ó 6, caracterizada porque la secuencia de péptidos comprende o consiste de cualquiera de:

RDSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEI
KAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYR
SEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSS
PLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M69);

RDSSPLLQWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAV
ALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEK
FTRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSFIFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLE
TDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M52);

HPIPDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGWDCARGQSAHSLLEI
AVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYR
SEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSS
PLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M5);

HPIPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQL
KALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYVYQSE
AHSLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLS

MVGPSQGRSPSYAS (M71);

HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQL

KALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSE

AHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLS

MVGPSQGRSPSYAS (M72);

HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQL

KALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSE

AHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLS

MVVQDELQGVGGEGCHMHPENCKTLLTDIDRTHTEKPVWDGITGE (M73);

RPLAFSDASPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAH

SLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGY

NVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESD

MFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M1);

RPLAFSDSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAH

SLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGY

NVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESD

MFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M2);

RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSA

HSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEILEDG

YNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLES

DMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M3);

RDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKA

VALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSE

KHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPL

ETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M48);

RPLAFSDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSL
LEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNV
YRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMF
SSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M49);

RHPIPDSSPLLQFGDQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLE
IKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEILEDGYNVYR
SEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSS
PLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M50);

RHPIPDSSPLLQFGGNVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLE
IKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYR
SEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSS
PLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M51);

MDSSPLLQWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKA
VALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEERPDGYNVYRSE
KHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPL
ETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M53); y

MRDSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLE
IKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYR
SEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSS
PLETDS16MDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M70), o una subsecuencia o fragmento de cualquiera de la secuencia de péptido anterior, o cualquiera de la secuencia de péptido anterior en donde el residuo R terminal se elimina.

20. La secuencia de péptidos quiméricos de conformidad con las reivindicaciones 1 ó 2, caracterizada

porque la región N-terminal comprende los residuos de aminoácidos DSSPLLQFGGQV, y en donde el residuo V corresponde a la última posición de la región N-terminal.

21. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 ó 6, caracterizada porque los residuos de aminoácidos HPIP son los primeros 4 residuos de aminoácidos de la región N-terminal.

22. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, 6 ó 19, caracterizada porque la primera posición de la región N-terminal es un residuo R, o en donde la primera posición de la región N-terminal es un residuo M, o en donde la primera y segunda posiciones de la región N-terminal es una secuencia MR, o en donde la primera y segunda posiciones de la región N-terminal es una secuencia RM, o en donde la primera y segunda posiciones de la región N-terminal es una secuencia RD, o en donde la primera y segunda posiciones de la región N-terminal es una secuencia DS, o en donde la primera y segunda posiciones de la región N-terminal es una secuencia MD, o en donde la primera y segunda posiciones de la región N-terminal es una secuencia MS, o en donde la primera a la tercera posiciones de la región N-terminal es una secuencia MDS, o en donde la primera a la tercera posiciones de la región N-terminal es una

secuencia RDS, o en donde la primera a la tercera posiciones de la región N-terminal es una secuencia MSD, o en donde la primera a la tercera posiciones de la región N-terminal es una secuencia MSS, o en donde la primera a la tercera posiciones de la región N-terminal es una secuencia DSS, o en donde la primera a la cuarta posiciones de la región N-terminal es una secuencia RDSS, o en donde la primera a la cuarta posiciones de la región N-terminal es una secuencia MDSS, o en donde la primera a la quinta posiciones de la región N-terminal es una secuencia MRDSS, o en donde la primera a quinta posiciones de la región N-terminal es una secuencia MSSPL, o en donde la primera a la sexta posiciones de la región N-terminal es una secuencia MDSSPL, o en donde la primera a la séptima posiciones de la región N-terminal es una secuencia MSDSSPL.

23. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 ó 6, caracterizada porque la última posición de la región C-terminal corresponde a alrededor del residuo 194 de la SEQ ID NO: 99 [FGF19].

24. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 ó 6, caracterizada porque la secuencia de péptidos comprende o consiste de:

HPIPDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGWDCARGQSAHSLLEI

KAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYR SEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSS PLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK, o una subsecuencia o fragmento del mismo; o

DSSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAV ALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEK HRLPVSLSSAKQRQLYKKRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLE TDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK, o una subsecuencia o fragmento del mismo;

RPLAFSDASPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGWDCARGQSAH SLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGY NVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESD MFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK, o una subsecuencia o fragmento del mismo;

RPLAFSDSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAH SLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGY NVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYK RGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESD MFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK, o una subsecuencia o fragmento del mismo;

DSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIK AVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRS EKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSP LETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK, o una subsecuencia o fragmento del mismo.

25. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia

de péptidos de conformidad con las reivindicaciones 18, 19 ó 24, caracterizada porque la subsecuencia o fragmento del mismo tiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más supresiones de aminoácido del término amino, el término carboxi o internamente.

26. La secuencia de péptidos quiméricos de conformidad con las reivindicaciones 1, 2 ó 6, caracterizada porque la región N-terminal o la región C-terminal, que comprende o consiste de una secuencia de aminoácidos de alrededor de 5 a 10, 10 a 20, 20 a 30, 30 a 40, 40 a 50, 60 a 70, 70 a 80, 80 a 90, 90 a 100 o más aminoácidos.

27. La secuencia de péptidos de conformidad con las reivindicaciones 3 ó 6, caracterizada porque la porción de secuencia de FGF19, o la porción de secuencia de FGF21, comprende o consiste de una secuencia de aminoácidos de alrededor de 5 a 10, 10 a 20, 20 a 30, 30 a 40, 40 a 50, 50 a 60, 60 a 70, 70 a 80, 80 a 90, 90 a 100 o más aminoácidos de FGF19 o FGF21.

28. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 ó 6, caracterizada porque la región N-terminal, o la región C-terminal, o la porción de secuencia de FGF19, o la porción de secuencia de FGF21, se unen por un enlazador o espaciador.

29. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia

de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 ó 6, caracterizada porque el N-término de la secuencia de péptidos comprende o consiste de cualquiera de:

HPIPDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSG (M5); DSSPLLQFGGQVRLRHLYTSG (M6); RPLAFSDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSG (M7); HPIPDSSPLLQWGDPIRLRHLYTSG (M8); HPIPDSSPLLQFGWGDPIRLRHLYTSG (M9);

HPIPDSSPHVHYG WGDPIRLRHLYTSG (M10);

RPLAFSDAGPLLQWGDPIRLRHLYTSG (M11);

RPLAFSDAGPLLQFGWGDPIRLRHLYTSG (M12);

RPLAFSDAGPLLQFGGQVRLRHLYTSG (M13);

HPIPDSSPHVHYGGQVRLRHLYTSG (M14);

RPLAFSDAGPHVHWGDPIRLRHLYTSG (M15);

RPLAFSDAGPHVHWGDPIRLRHLYTSG (M16);

RPLAFSDAGPHVGWGDPIRLRHLYTSG (M17);

RPLAFSDAGPHYGWGDPIRLRHLYTSG (M18);

RPLAFSDAGPVYGWGDPIRLRHLYTSG (M19);

RPLAFSDAGPVHGWGDPIRLRHLYTSG (M20);

RPLAFSDAGPVHYWGDPIRLRHLYTSG (M21);

RPLAFSDAGPHVHGWGDPIRLRHLYTSG (M22);

RPLAFSDAGPHHGWGDPIRLRHLYTSG (M23);

RPLAFSDAGPHHYWGDPIRLRHLYTSG (M24);

RPLAFSDAGPHVYWGDPIRLRHLYTSG (M25);

RPLAFSDSSPLVHWGDPIRLRHLYTSG (M26);

RPLAFSDSSPHVHWGDPIRLRHLYTSG (M22);

RPLAFSDAGPHVWGDPIRLRHLYTSG (M28);

RPLAFSDAGPHVHYWGDPIRLRHLYTSG (M29);

RPLAFSDAGPHVHYAWGDPIRLRHLYTSG (M30);

RHPIPDSSPLLQFGAQVRLRHLYTSG (M31);

RHPIPDSSPLLQFGDQVRLRHLYTSG (M32); RHPIPDSSPLLQFGPQV RLRHLYTSG (M33); RHPIPDSSPLLQFGGAVRLRHLYTSG (M34);

RHPIPDSSPLLQFGGEVRLRHLYTSG (M35);

RHPIPDSSPLLQFGGNVRLRHLYTSG (M36);

RHPIPDSSPLLQFGGQARLRHLYTSG (M37); RHPIPDSSPLLQFGGQIRLRHLYTSG (M38); RHPIPDSSPLLQFGGQTRLRHLYTSG (M39); RHPIPDSSPLLQFGWGQPVRLRHLYTSG (M40);

DAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSG (M74); VHYGWGDPIRLRHLYTSG (M75);

RLRHLYTSG (M77); o cualquiera de la secuencia de péptido anterior en donde el residuo amino R terminal se elimina.

30. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 ó 6, caracterizada porque el N-término de la secuencia de péptidos comprende o consiste de cualquiera de:

RHPIPDSSPLLQFGWGDPIRLRHLYTSG; RHPIPDSSPLLQWGDPIRLRHLYTSG; RPLAFSDAGPLLQFGWGDPIRLPRHLYTSG;

RHPIPDSSPHVHYGWGDPIRLRHLYTSG;

RPLAFSDAGPLLQFGGQVRLRHLYTSG; RHPIPDSSPHVHYGGQVRLRHLYTSG; RPLAFSDAGPHVFIYGGDIRLRHLYTSG; RDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSG;

RPLAFSDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSG; RHPIPDSSPLLQFGAQVRLRHLYTSG;

RHPIPDSSPLLQFGDQVRLRHLYTSG; RHPIPDSSPLLQFGPQVRLRHLYTSG;
RHPIPDSSPLLQFGGAVRLRHLYTSG; RHPIPDSSPLLQFGGEVRLRHLYTSG;
RHPIPDSSPLLQFGGNVRLRHLYTSG; RHPIPDSSPLLQFGGQARLRHLYTSG;
RHPIPDSSPLLQFGGQIRLRHLYTSG; RHPIPDSSPLLQFGGQTRLRHLYTSG;
RHPIPDSSPLLQFGWGQPVRLRHLYTSG; o cualquiera de las secuencias de péptidos anteriores en donde el residuo amino R terminal se elimina.

31. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con las reivindicaciones 29 ó 30, caracterizada porque la secuencia de péptidos además comprende la adición de los residuos de aminoácidos 30-194 de la SEQ ID NO: 99 [FGF19] en el C-término, que resulta en un polipéptido quimérico.

32. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 29 ó 30, caracterizada porque la secuencia de péptidos además comprende todo o una porción de una secuencia de FGF19 que se establece como:
PHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGA
DGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGF
LPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFE
K colocada en el C-término del péptido, o en donde el residuo "R" amino terminal se elimina del péptido.

33. Una subsecuencia de una secuencia de péptidos quiméricos o una secuencia de péptidos de conformidad con

cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 ó 6, caracterizada porque la subsecuencia tiene una disminución de aminoácidos.

34. La subsecuencia de conformidad con la reivindicación 33, caracterizada porque la subsecuencia tiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más eliminaciones de aminoácidos del término amino, el término carboxi o internamente.

35. La secuencia de péptidos de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque la referencia o secuencia de FGF19 de tipo silvestre se establece como:
RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSA
HSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDG
YNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLES
DMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO: 99).

36. La secuencia de péptidos de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque la referencia o secuencia de FGF21 de tipo silvestre se establece como:
RHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQ
LKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQS
EAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPL
SMVGPSQGRSPSYAS (SEQ ID NO: 100).

37. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 ó 6, caracterizada porque la región N-terminal de la primera posición de aminoácido es un residuo

"M", un residuo "R", un residuo "S", un residuo "H", un residuo "P", un residuo "L" o un residuo "D", o en donde la secuencia de péptidos no tiene un residuo "M" o un residuo "R" en la primera posición de aminoácido de la región N-terminal.

38. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 ó 6, caracterizada porque la región N-terminal comprende cualquiera de las siguientes secuencias: MDSSPL, MSDSSPL, SDSSPL, MSSPL o SSPL.

39. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 ó 6, caracterizada porque la secuencia de péptidos tiene una formación de carcinoma hepatocelular (HCC) reducida comparada con FGF19, o una secuencias de variante FGF19 que tiene cualquiera de GQV, GDI, WGPI, WGDPV, WGDI, GDPI, GPI, WGQPI, WGAPI, AGDPI, WADPI, WGDAI, WGDPA, WDPI, WGDI, WGDP o FGDPI sustituida por la secuencia de WGDPI en los aminoácidos 16-20 de FGF19.

40. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 ó 6, caracterizada porque la secuencia de péptidos tiene mayor actividad de disminución de glucosa comparada con FGF19, o una secuencia variante de FGF19 que tiene cualquiera de GQV, GDI, WGPI, WGDPV, WGDI, GDPI, GPI,

WGQPI, WGAPI, AGDPI, WADPI, WGDAI, WGDPA, WDPI, WGDI, WGDP o FGDPI sustituida por la secuencia de WGDPI en los aminoácidos 16-20 de FGF19.

41. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 ó 6, caracterizada porque la secuencia de péptidos tiene menos actividad de incremento de lípidos comparada con FGF19, o una secuencia variante de FGF19 que tiene cualquiera de GQV, GDI, WGPI, WGDPV, WGDI, GDPI, GPI, WGQPI, WGAPI, AGDPI, WADPI, WGDAI, WGDPA, WDPI, WGDI, WGDP o FGDPI sustituida para la secuencia de WGDPI en los aminoácidos 16-20 de FGF19.

42. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 ó 6, caracterizada porque la secuencia de péptidos tiene menos actividad de incremento de triglicéridos, colesterol, sin HDL o HDL comparada con FGF19, o una secuencia variante de FGF19 que tiene cualquiera de GQV, GDI, WGPI, WGDPV, WGDI, GDPI, GPI, WGQPI, WGAPI, AGDPI, WADPI, WGDAI, WGDPA, WDPI, WGDI, WGDP o FGDPI sustituida para la secuencia de WGDPI en los aminoácidos 16-20 de FGF19.

43. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 ó 6, caracterizada porque la secuencia de péptidos tiene menos actividad de reducción de masa magra

comparada con FGF21.

44. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 39 a 43, caracterizada porque la formación de carcinoma hepatocelular (HCC), actividad de disminución de glucosa, actividad de incremento de lípidos, o actividad de reducción de masa magra se prueba en ratones *db/db*.

45. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 ó 6, caracterizada porque la secuencia de péptidos se une al receptor 4 del factor de crecimiento de fibroblasto (FGFR4) o activa FGFR4, o no se une detectablemente al receptor 4 del factor de crecimiento de fibroblasto (FGFR4) o activa FGFR4.

46. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 ó 6, caracterizada porque la secuencia de péptidos se une a FGFR4 con una afinidad menor que, comparable a o mayor que la afinidad que une FGF19 para FGFR4.

47. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 ó 6, caracterizada porque la secuencia de péptidos activa FGFR4 a un grado o cantidad menor que, comparable a o mayor que FGF19 activa FGFR4.

48. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 ó 6, caracterizada porque la secuencia de péptidos tiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 sustituciones, eliminaciones o inserciones de aminoácidos.

49. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con la reivindicación 48, caracterizada por las eliminaciones de aminoácidos son en N o C-término, o internas.

50. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con la reivindicación 48, caracterizada porque la sustitución de aminoácidos, o eliminación es en cualquiera de las posiciones de aminoácidos 8-20 de FGF19 (AGPHVHYGWGDPI).

51. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 ó 6, caracterizada porque la secuencia de péptidos comprende uno o más L-aminoácidos, D-aminoácidos, aminoácidos que no son de origen natural, o aminoácidos miméticos, derivados o análogos.

52. Una composición, caracterizada porque comprende la secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 51.

53. Una composición farmacéutica, caracterizada porque comprende la secuencia de péptidos quiméricos o

secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 51.

54. Una composición farmacéutica, caracterizada porque comprende la secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 51, y un agente de disminución de glucosa.

55. La secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 51, caracterizada porque la secuencia de péptidos se aísla o se purifica.

56. Una molécula de ácido nucleico que codifica la secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 51.

57. La molécula de ácido nucleico de conformidad con la reivindicación 56, caracterizada además porque comprende un elemento de control de expresión en ligamento operable que confiere expresión de la molécula de ácido nucleico que codifica el péptido in vitro, en una célula o in vivo.

58. Un vector caracterizado porque comprende la molécula de ácido nucleico de conformidad con las reivindicaciones 56 ó 57.

59. El vector de conformidad con la reivindicación 58, caracterizado porque el vector comprende un vector viral.

60. Una célula transforma o huésped que expresa la secuencia de péptidos quiméricos o la secuencia de péptido de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 51.

61. Un método para tratar a un sujeto que tiene, o en riesgo de tener, una enfermedad o trastorno tratable por la secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 51, que comprende administrar la secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos a un sujeto en una cantidad efectiva para tratar el trastorno.

62. El método de conformidad con la reivindicación 61, caracterizado porque la enfermedad o trastorno comprende un padecimiento hiperglicémico, resistencia a la insulina, hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa o síndrome metabólico.

63. El método de conformidad con la reivindicación 62, caracterizado porque el padecimiento hiperglicémico comprende diabetes.

64. El método de conformidad con la reivindicación 62, caracterizado porque el padecimiento hiperglicémico comprende diabetes dependiente de insulina (tipo I), diabetes tipo II, o diabetes gestacional.

65. El método de conformidad con la reivindicación 61, caracterizado porque el trastorno comprende obesidad o una masa corporal indeseable.

66. Un método para mejorar el metabolismo de glucosa en un sujeto en necesidad del mismo, caracterizado porque comprende administrar la secuencia de péptidos quiméricos o secuencia de péptidos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 51 a un sujeto en una cantidad efectiva para mejorar el metabolismo de glucosa en el sujeto.

67. El método de conformidad con la reivindicación 63, caracterizado porque el sujeto tiene un nivel de glucosa en plasma en ayunas mayor que 100 mg/dl o tiene un nivel Ale de hemoglobina (HbAlc) por arriba de 6%.

68. El método de conformidad con las reivindicaciones 63 ó 67, caracterizado porque el método resulta en niveles de glucosa reducidos, sensibilidad a insulina incrementada, resistencia a la insulina reducida, glucagón reducido, una mejora en la tolerancia a la glucosa, o metabolismo de glucosa u homeostasis, función pancreática mejorada, niveles de triglicéridos, colesterol, IDL, LDL o VLDL reducidos, una disminución en la presión sanguínea, una disminución en el engrosamiento de la íntima del vaso sanguíneo, o una disminución en la masa corporal o ganancia de peso.

69. Un método para identificar una secuencia de péptidos que tiene actividad de disminución de glucosa sin actividad de carcinoma hepatocelular (HCC), caracterizado

porque comprende:

a) proporcionar una secuencia de péptidos candidatos;

b) administrar las secuencia de péptidos candidatos a un animal de prueba;

c) medir los niveles de glucosas del animal después de la administración de la secuencia de péptidos candidatos, para determinar si la secuencia de péptidos candidatos reduce los niveles de glucosa; y

d) analizar las secuencia de péptidos candidatos para inducción de HCC en el animal, o la expresión de un marcador que correlaciona con la actividad de HCC, en donde un péptido candidato que tiene actividad de disminución de glucosa y una actividad de HCC sustancial que identifique así la secuencia de péptidos candidatos como una secuencia de péptidos que tiene actividad de disminución de glucosa sin actividad de carcinoma hepatocelular (HCC) sustancial.

70. El método de conformidad con la reivindicación 69, caracterizado porque el animal de prueba es un ratón *db/db*.

71. El método de conformidad con la reivindicación 69, caracterizado además porque comprende la evaluación de una muestra de tejido hepático del animal de prueba para determinar si la secuencia de péptidos candidatos muestra evidencia de inducción de HCC.

72. El método de conformidad con la reivindicación 69, caracterizado porque el marcador se correlaciona con la actividad de HCC que comprende el perfil de lípidos, y en donde menos actividad de incremento de lípidos comparada con FGF19 indica que el péptido no tiene actividad de HCC sustancial.

73. El método de conformidad con la reivindicación 69, caracterizado porque el marcador que se correlaciona con la actividad de HCC comprende la expresión del gen aldo-ceto reductasa, y en donde la regulación ascendente o incremento de la expresión del gen aldo-ceto reductasa comparada con FGF19 indica que el péptido no tiene actividad de HCC sustancial.

74. El método de conformidad con la reivindicación 69, caracterizado porque el marcador indicativo de la actividad de HCC comprende el gen de expresión Slcla2, y en donde la regulación descendente o disminución del gen de expresión Slcla2 comparado con FGF21 indica que el péptido no tiene actividad de HCC sustancial.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

La invención se refiere a variantes y fusiones del factor 19 de crecimiento de fibroblasto (FGF19), variantes y fusiones del factor 21 de crecimiento de fibroblasto (FGF21), fusiones del factor 19 de crecimiento de fibroblasto (FGF19) y/o el factor 21 de crecimiento de fibroblasto (FGF21) y variantes o fusiones de proteínas del factor 19 de crecimiento de fibroblasto (FGF19) y/o el factor 21 de crecimiento de fibroblasto (FGF21), y las secuencias de péptidos (y peptidomiméticos), que tienen una o más actividades, tales como la actividad de reducción de la glucosa, y métodos para y usos en el tratamiento de hiperglicemia y otros trastornos.

FGF19
RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEI
KAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKH
RLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDP
FGLVTGLEAVRSPSFEK

FGF21
HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALK
PGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLP
GNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYA
S

M5
HPIPDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVA
LRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVS
LSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVT
GLEAVRSPSFEK

M71
HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALK
PGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHSLPLHLP
GNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYA
S

M72
HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALK
PGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLP
GNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYA
S

M73
HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALK
PGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLP
GNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVVQDELQGVGG
EGCHMHPENCKTLLTDIDRTHTEKPVWDGITGE

M1
RPLAFSDASPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEI
KAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKH
RLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDP
FGLVTGLEAVRSPSFEK

FIG: 1

M2
RPLAFSDSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEI
KAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKH
RLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDP
FGLVTGLEAVRSPSFEK

M69
RDSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVA
LRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVS
LSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVT
GLEAVRSPSFEK

M3
RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEI
KAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEILEDGYNVYRSEKHR
LPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPF
GLVTGLEAVRSPSFEK

M48
RDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRT
VAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSS
AKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGL
EAVRSPSFEK

M49
RPLAFSDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKA
VALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLP
VSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGL
VTGLEAVRSPSFEK

M50
RHPIPDSSPLLQFGDQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAV
ALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEILEDGYNVYRSEKHRLPV
SLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLV
TGLEAVRSPSFEK

FIG: 1 (CONTINUACIÓN)

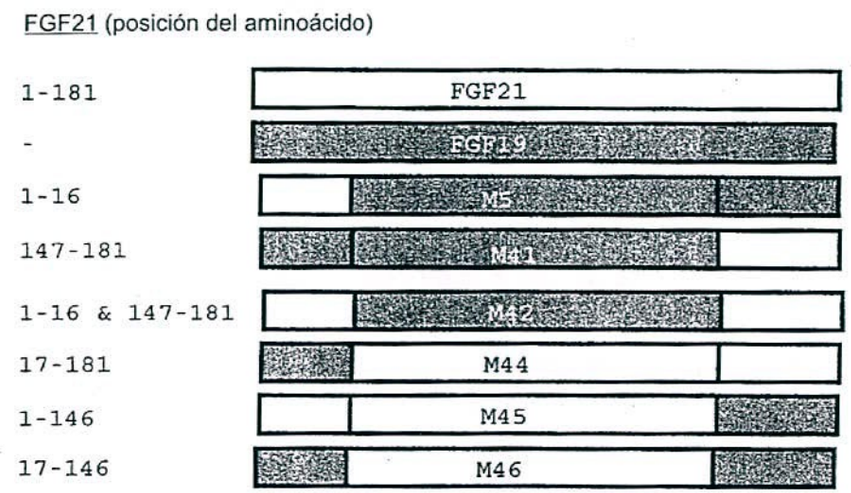
M51
RHPIPDSSPLLQFGGNVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAV
ALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPV
SLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLV
TGLEAVRSPSFEK

M52
RDSSPLLQWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRT
VAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSS
AKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGL
EAVRSPSFEK

M53
MDSSPLLQWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRT
VAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSS
AKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGL
EAVRSPSFEK

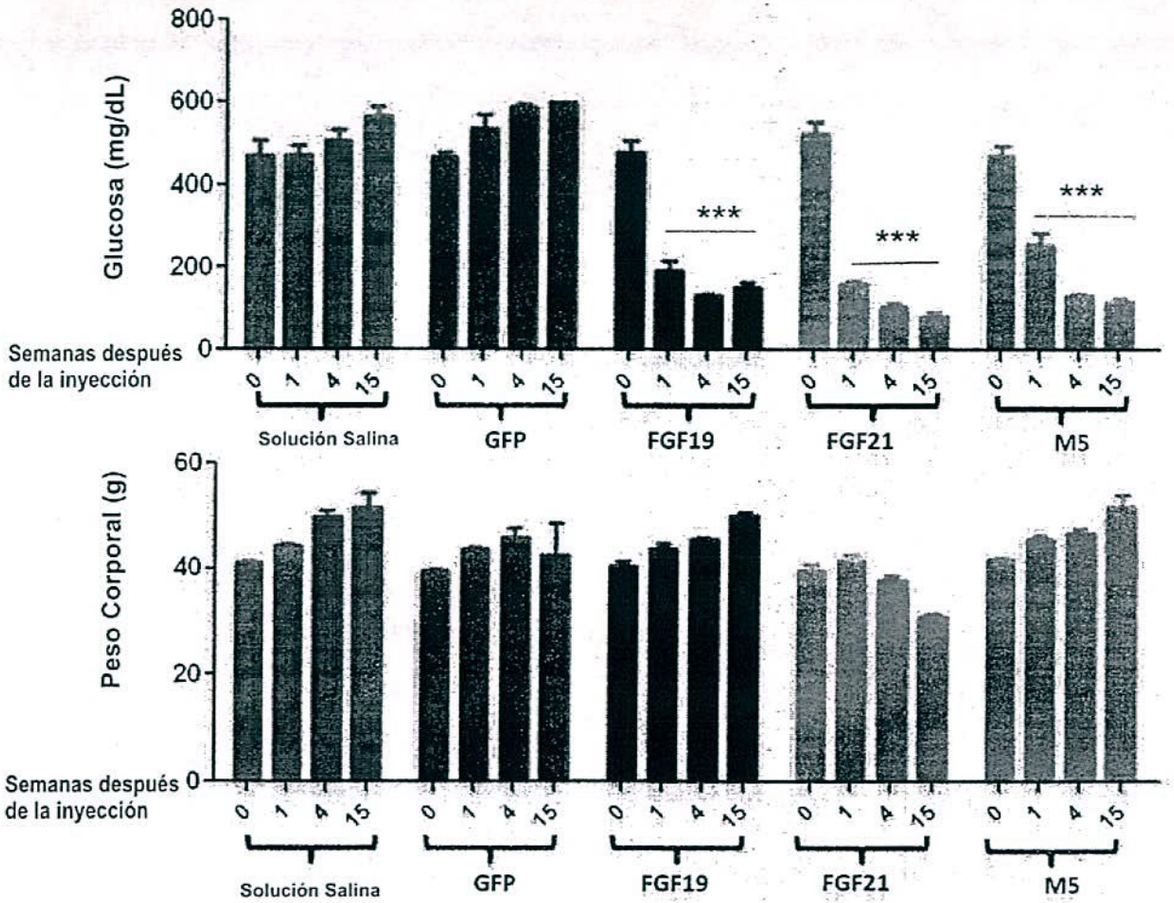
M70
MRDSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAV
ALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPV
SLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLV
TGLEAVRSPSFEK

FIG: 1 (CONTINUACIÓN)



FGF19	Disminución de Glucosa	Elevación de Lípidos
-	+	-
1-194	+	+
21-194	+	-
1-147	+/-	+
21-147	-	-
1-20	+	+
148-194	+	-
1-20 & 148-194	+/-	-

FIG: 2



(***P<0.001 vs. Solución Salina)

FIG: 3A

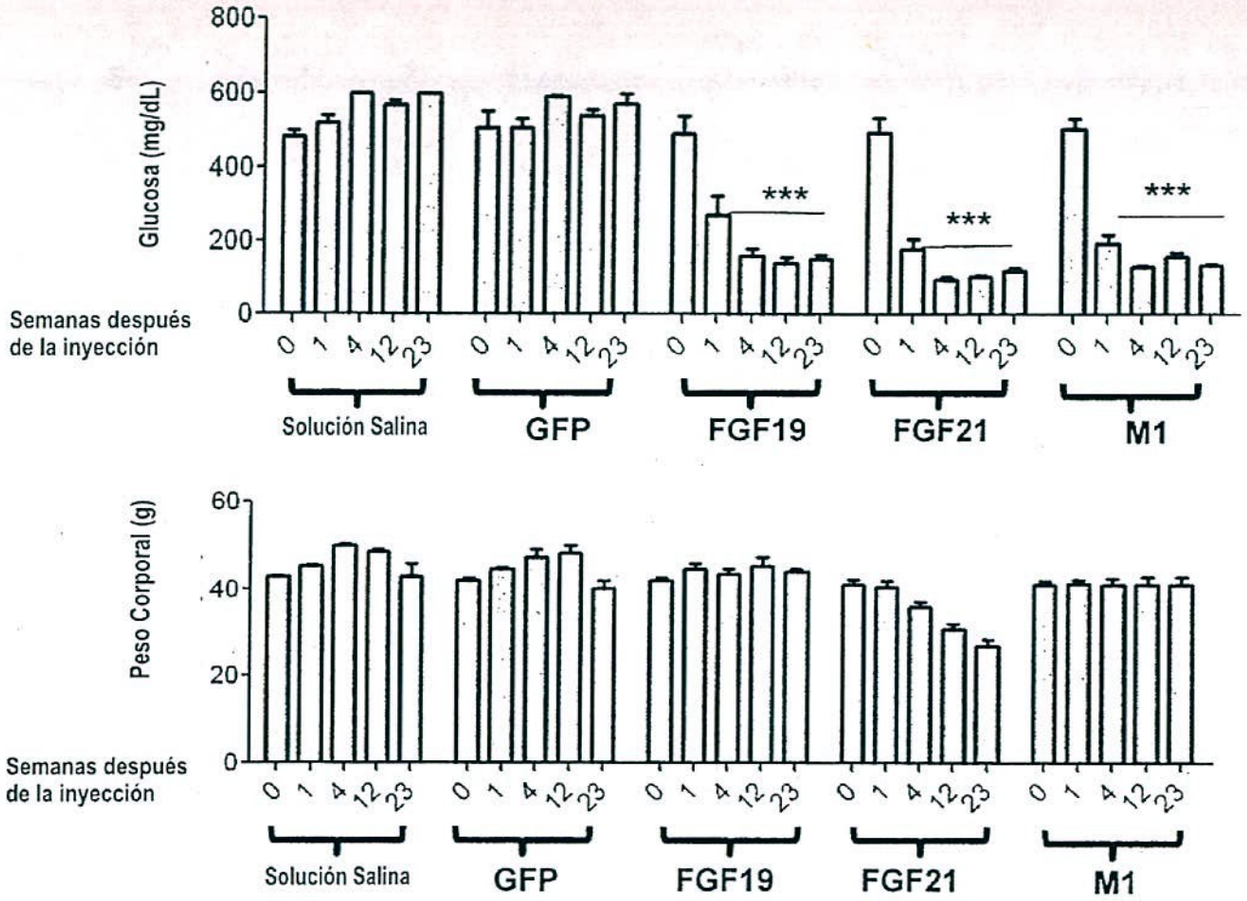
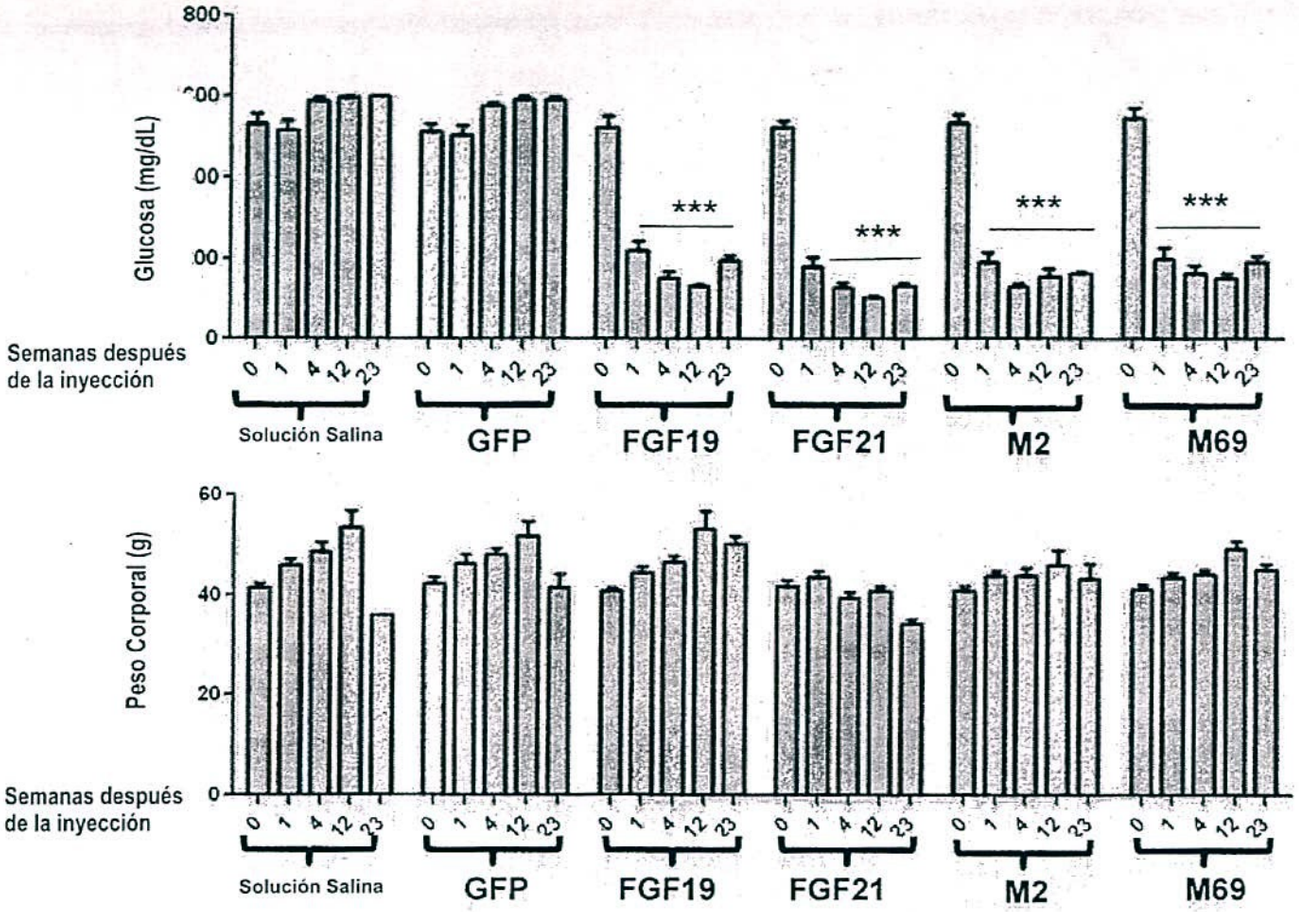
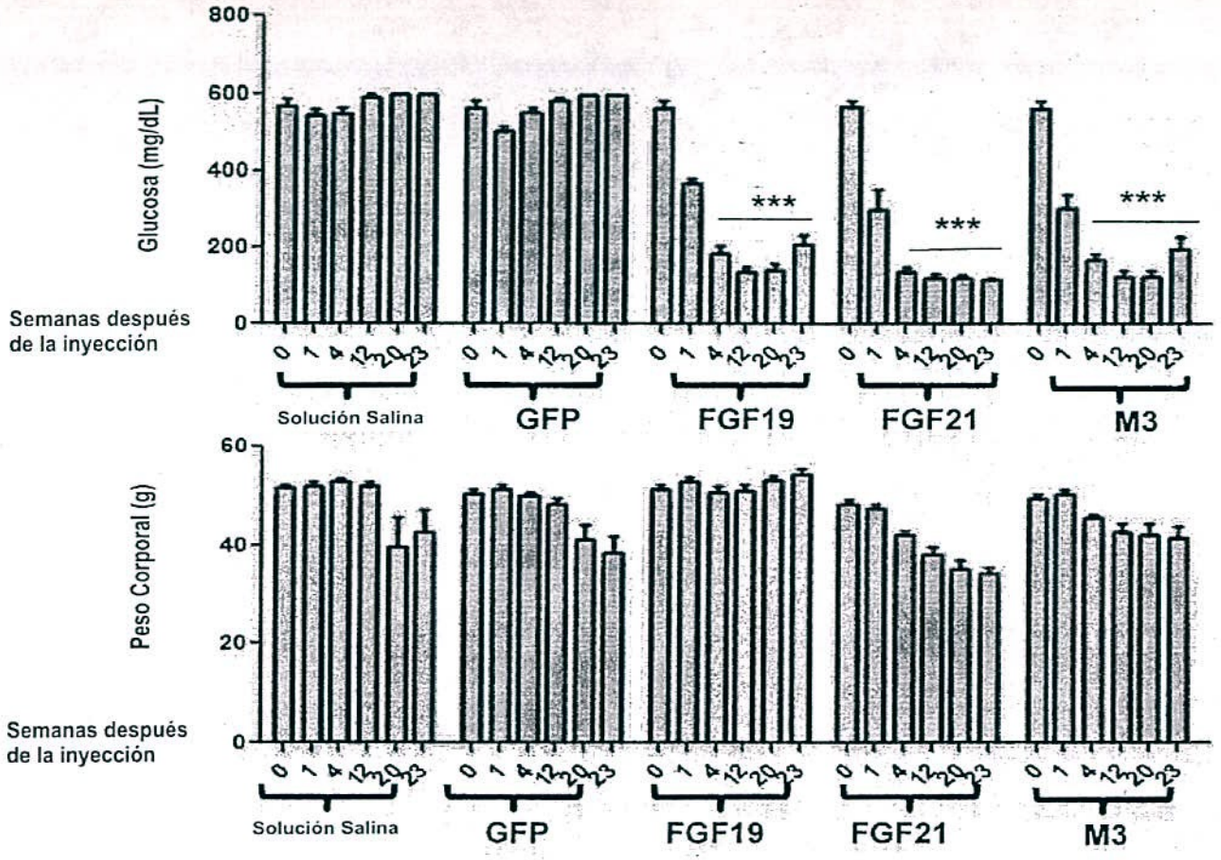

Glucosa (mg/dL)
800
600
400
200
0
***
***
***
Semanas después de la inyección
0 1 4 12 23
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M1
Peso Corporal (g)
60
40
20
0
Semanas después de la inyección
0 1 4 12 23
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M1

FIG: 3B



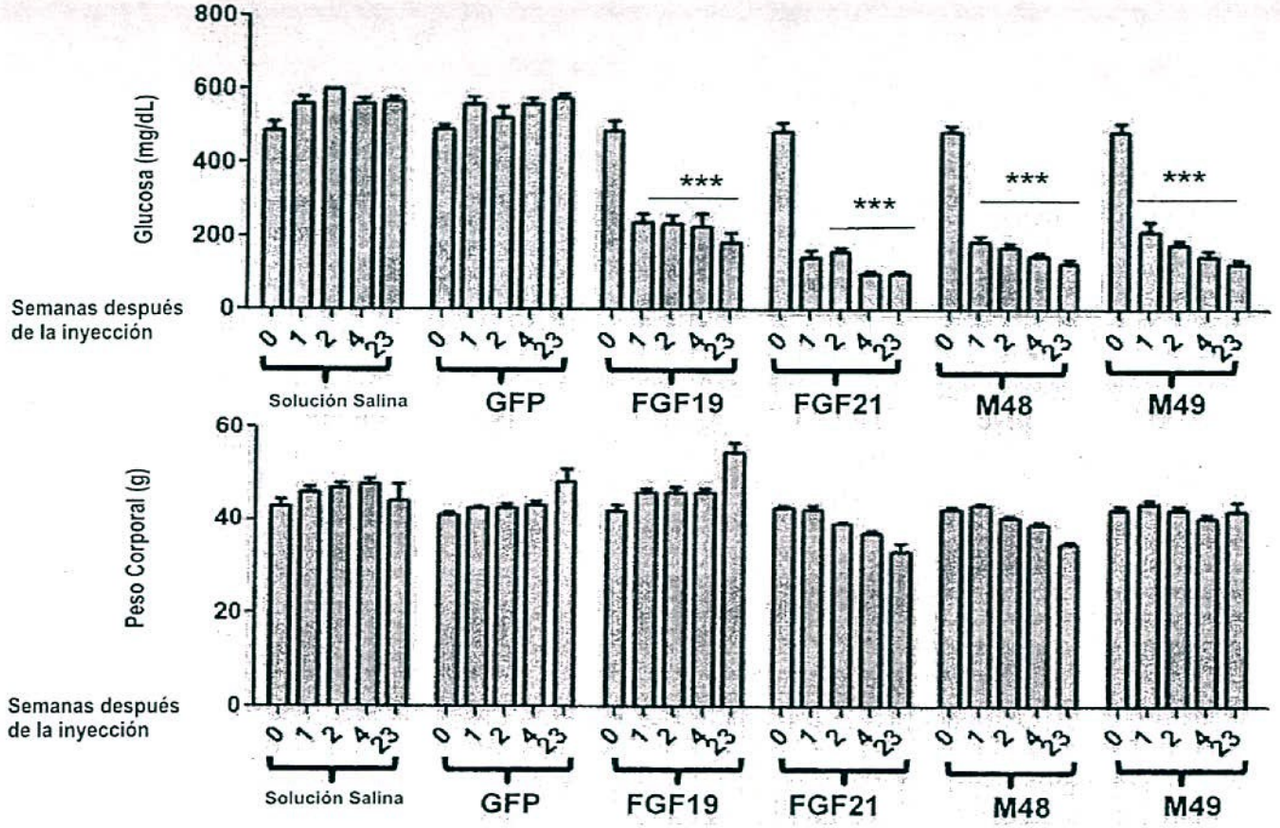
(***P<0.001 vs. Solución Salina)

FIG: 3C



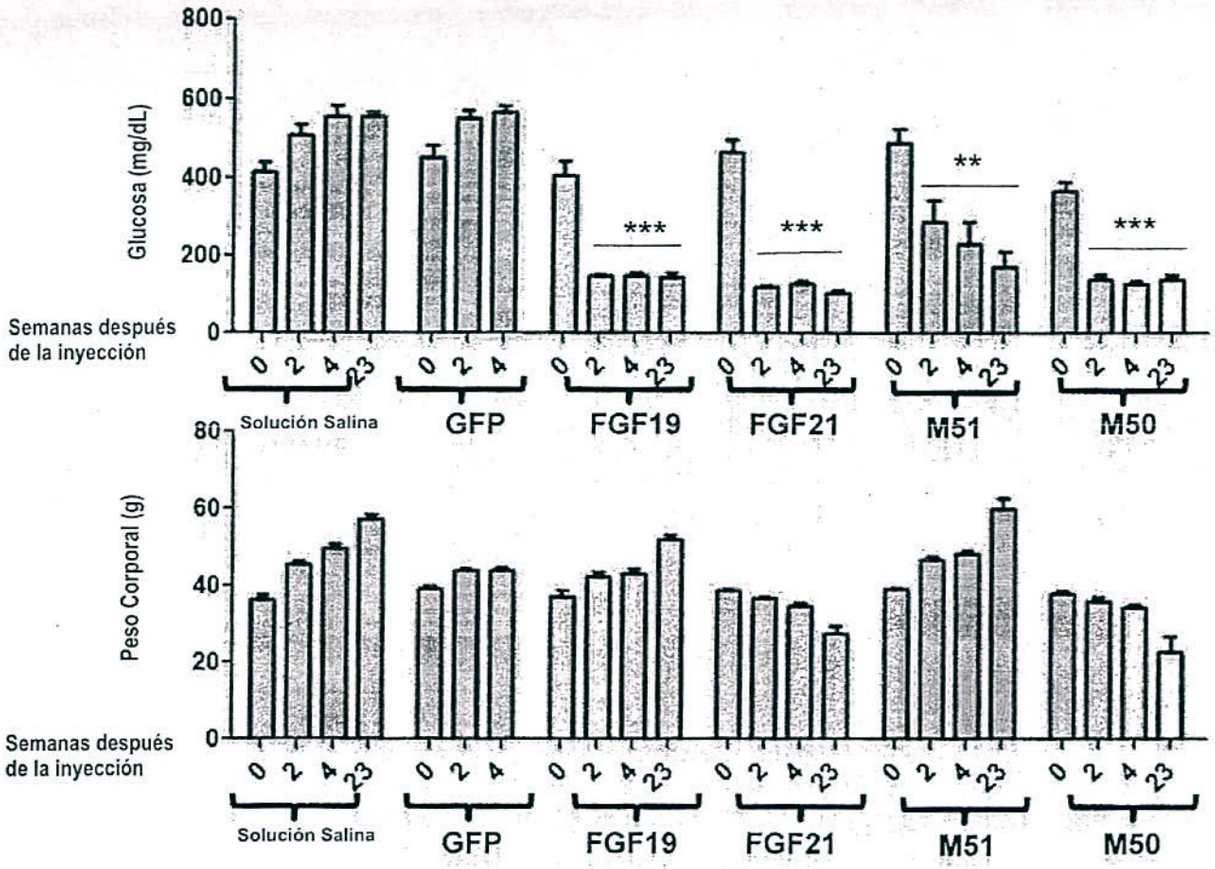
(***P<0.001 vs. Solución Salina)

FIG: 3D



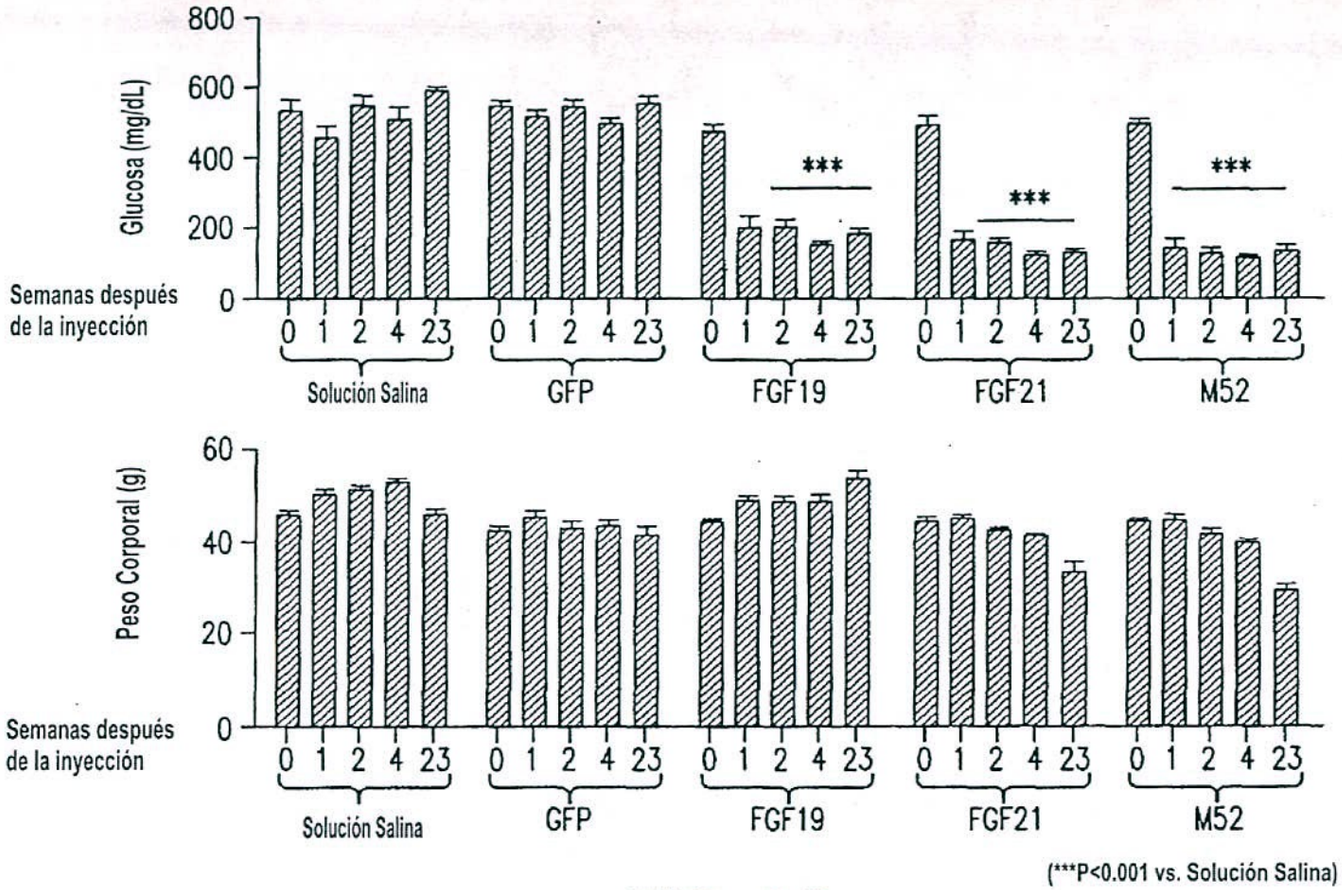
(***P<0.001 vs. Solución Salina)

FIG: 3E



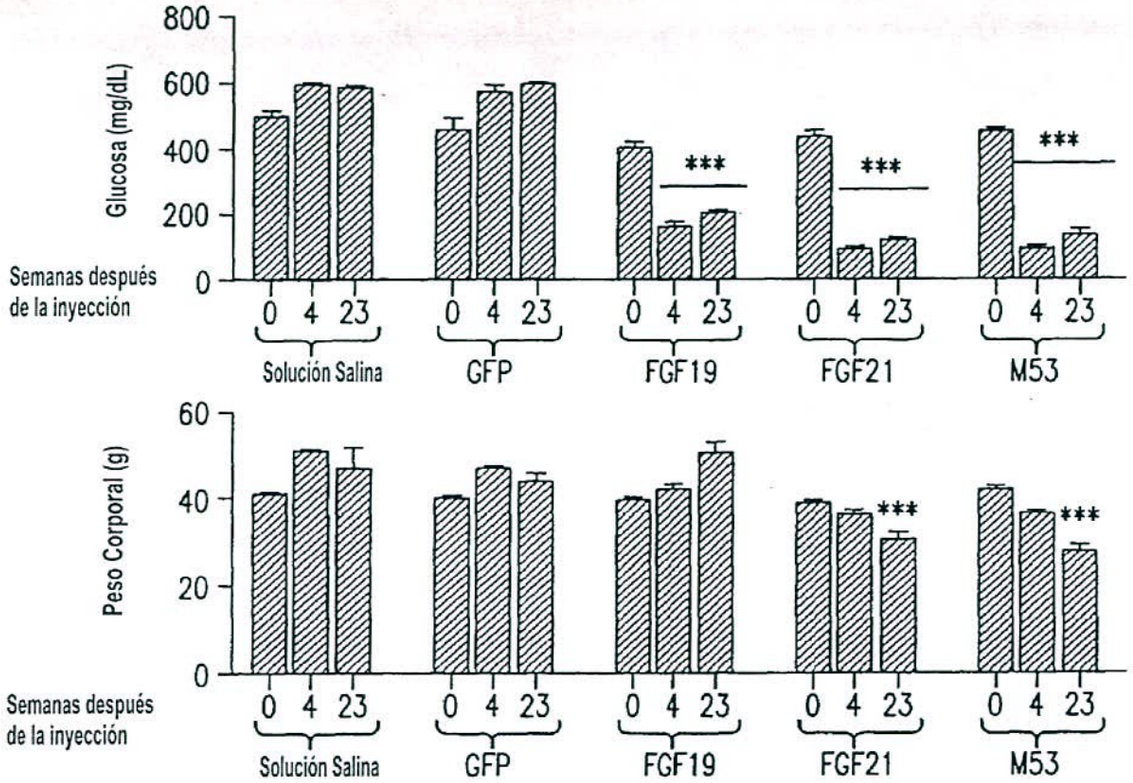
(***P<0.001 vs. Solución Salina)

FIG: 3F



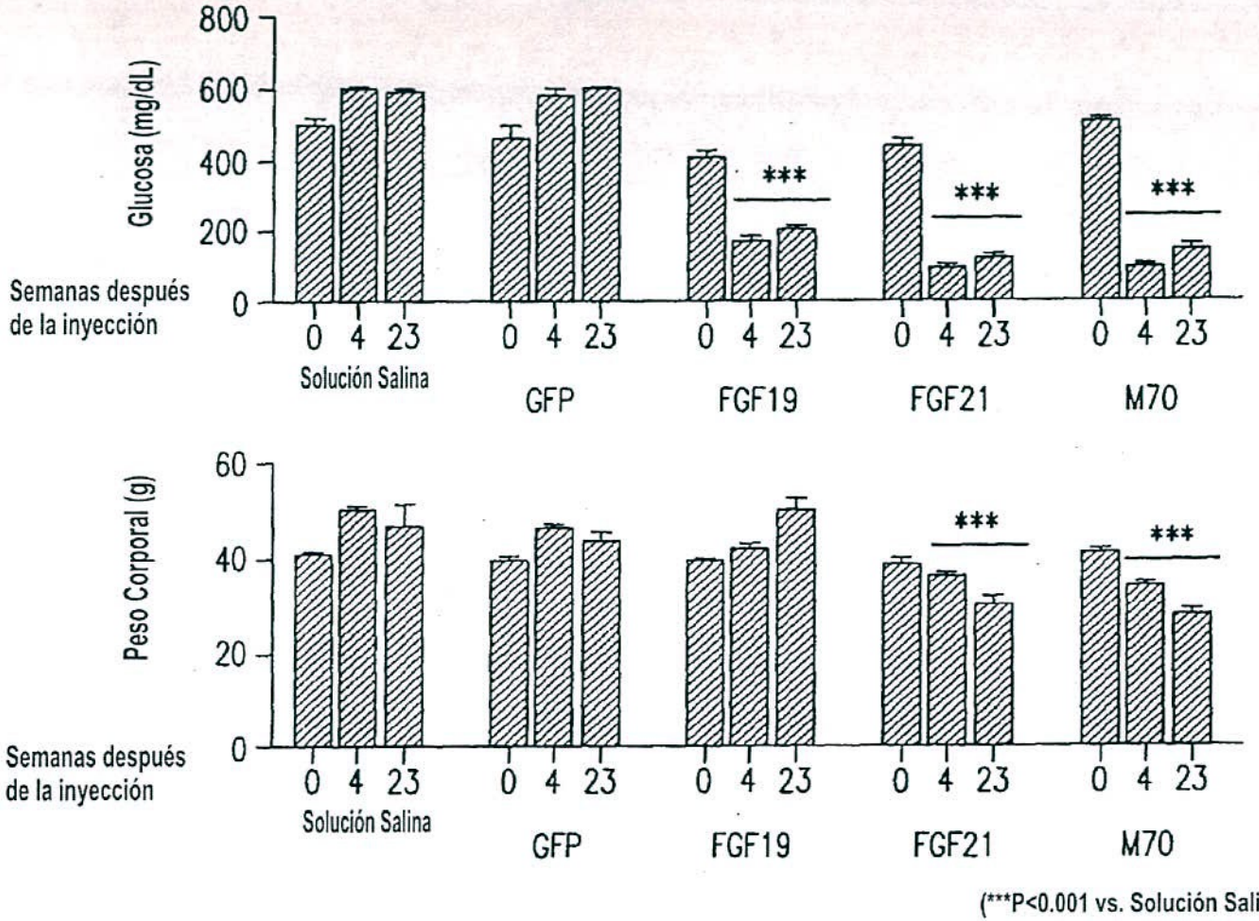
(***P<0.001 vs. Solución Salina)

FIG. 3G



(***P<0.001 vs. Solución Salina)

FIG. 3H



(***P<0.001 vs. Solución Salina)

FIG. 3I

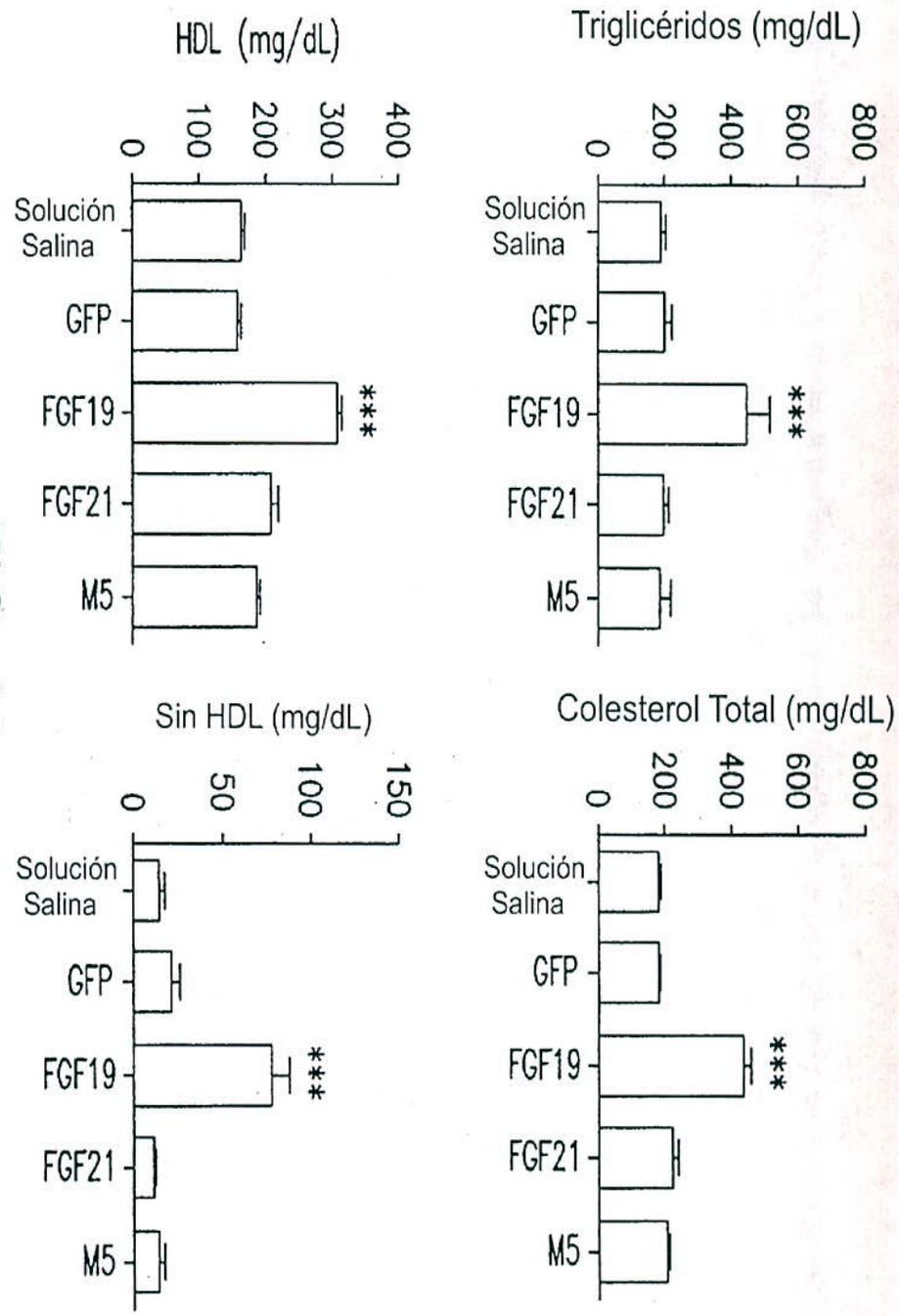

HDL (mg/dL)
0
100
200
300
400
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M5
***
Triglicéridos (mg/dL)
0
200
400
600
800
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M5
***
Sin HDL (mg/dL)
0
50
100
150
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M5
***
Colesterol Total (mg/dL)
0
200
400
600
800
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M5
***

FIG. 4A

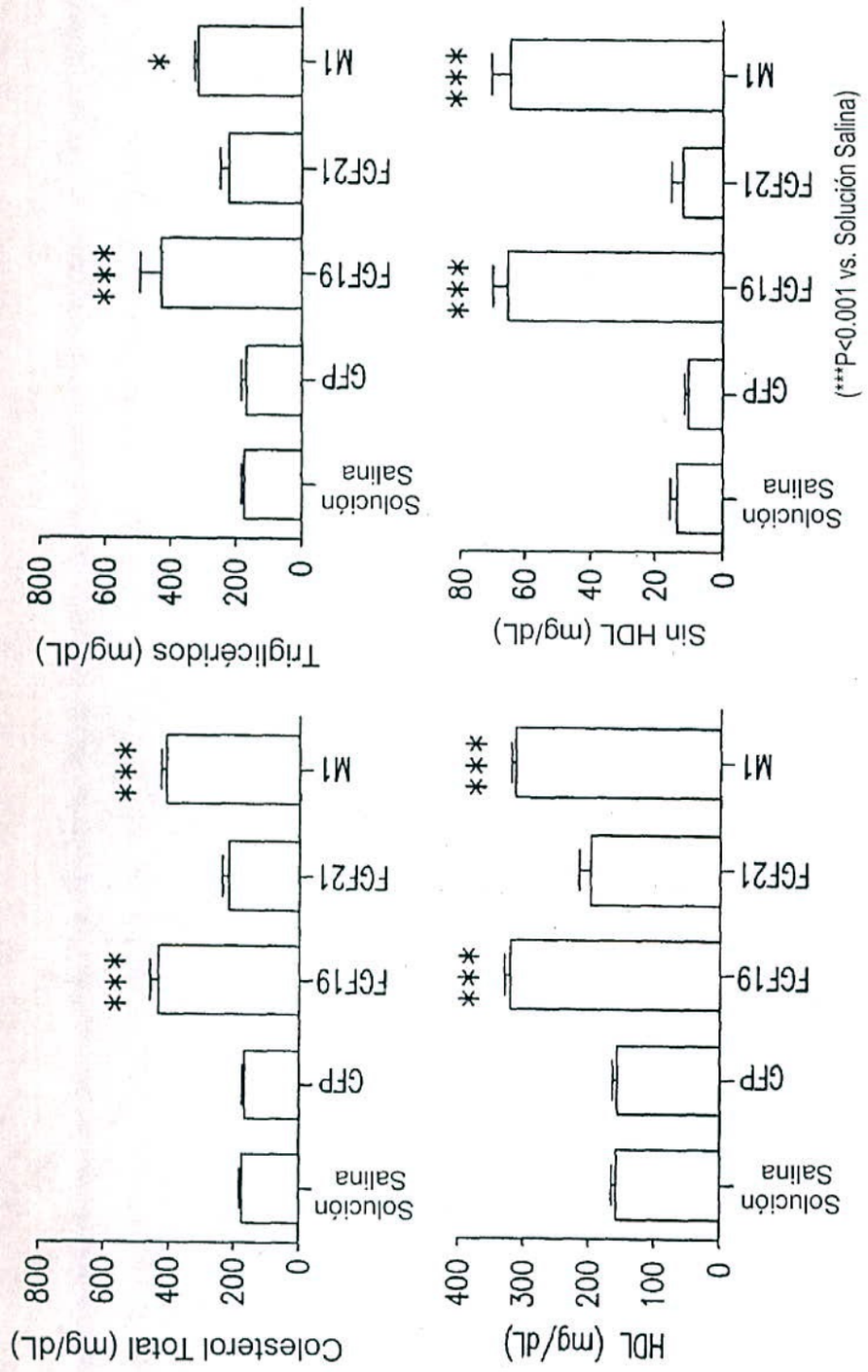

Colesterol Total (mg/dL)
HDL (mg/dL)
Triglicéridos (mg/dL)
Sin HDL (mg/dL)
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M1
(***P<0.001 vs. Solución Salina)

FIG. 4B

Triglicéridos (mg/dL)
1000
800
600
400
200
0
***
*
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M2
M69
Colesterol Total (mg/dL)
800
600
400
200
0
***
***
***
HDL (mg/dL)
400
300
200
100
0
***
***
***
Sin HDL (mg/dL)
200
150
100
50
0
***
***
***
(***P<0.001 vs. Solución Salina)

FIG. 4C

Triglicéridos (mg/dL)
800
600
400
200
0
***
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M3
Colesterol Total (mg/dL)
800
600
400
200
0
***
***
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M3
HDL (mg/dL)
400
300
200
100
0
***
***
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M3
Sin HDL (mg/dL)
150
100
50
0
***
***
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M3
(***P<0.001 vs. Solución Salina)

FIG. 4D

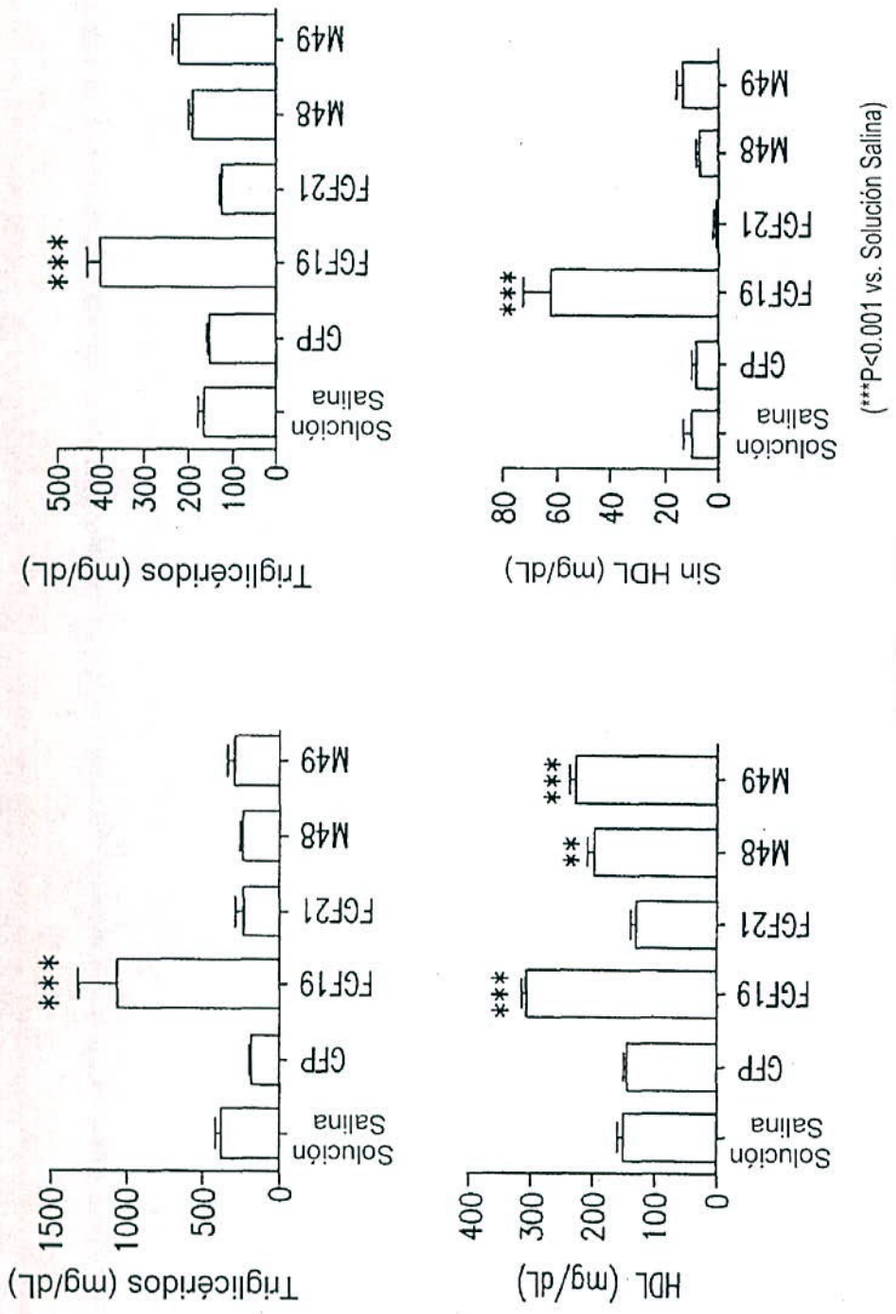

Triglicéridos (mg/dL)
0
500
1000
1500
***
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M48
M49
HDL (mg/dL)
0
100
200
300
400
***
**
***
Sin HDL (mg/dL)
0
20
40
60
80
***
(***P<0.001 vs. Solución Salina)
Triglicéridos (mg/dL)
0
100
200
300
400
500
***

FIG. 4E

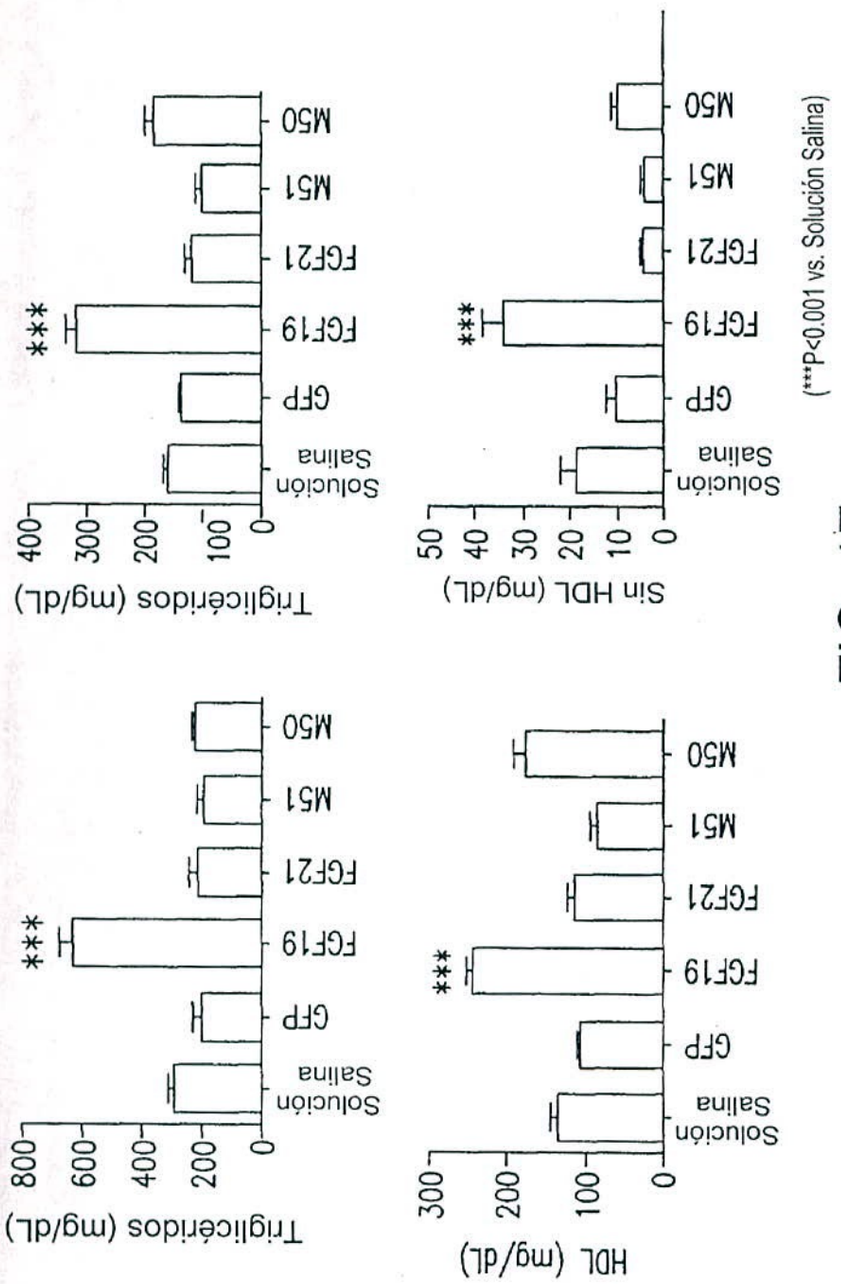

Triglicéridos (mg/dL)
0
100
200
300
400
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M51
M50
***
Sin HDL (mg/dL)
0
10
20
30
40
50
***
(***P<0.001 vs. Solución Salina)
Triglicéridos (mg/dL)
0
200
400
600
800
***
HDL (mg/dL)
0
100
200
300
***

FIG. 4F

Triglicéridos (mg/dL)
800
600
400
200
0
***
***
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M52
Colesterol Total (mg/dL)
600
400
200
0
***
***
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M52
HDL (mg/dL)
400
300
200
100
0
***
***
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M52
Sin HDL (mg/dL)
100
80
60
40
20
0
***
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M52
(***P<0.001 vs. Solución Salina)

FIG. 4G

Triglicéridos (mg/dL)
800
600
400
200
0
***
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M53
Colesterol Total (mg/dL)
600
400
200
0
***
***
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M53
HDL (mg/dL)
500
400
300
200
100
0
***
***
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M53
Sin HDL (mg/dL)
80
60
40
20
0
***
***
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M53
(***P<0.001 vs. Solución Salina)

FIG. 4I

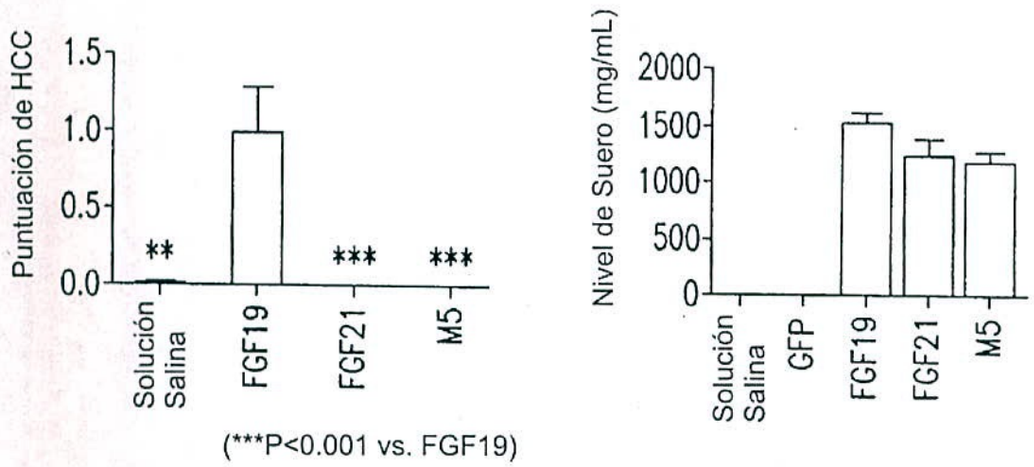

Puntuación de HCC
1.5
1.0
0.5
0.0
**
***
***
Solución Salina
FGF19
FGF21
M5
(***P<0.001 vs. FGF19)
Nivel de Suero (mg/mL)
2000
1500
1000
500
0
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M5

FIG. 5A

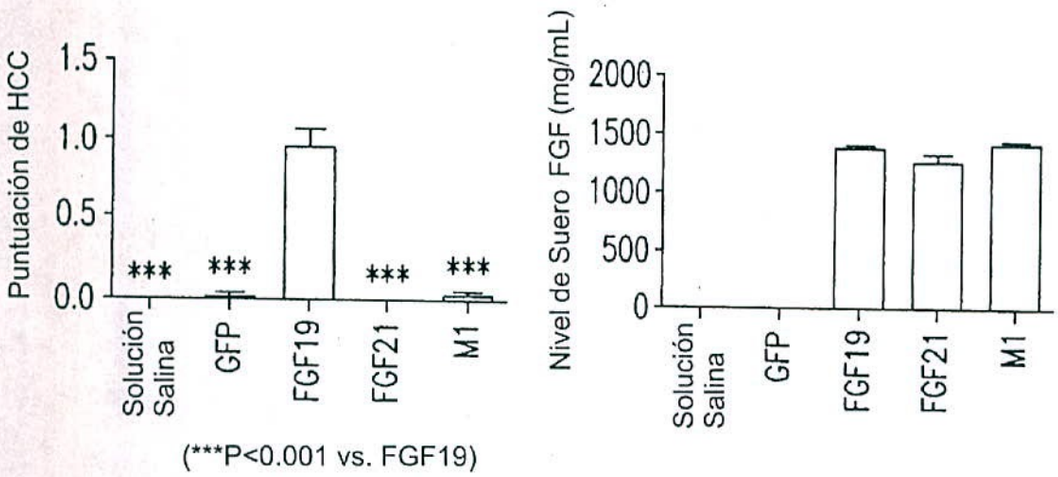

Puntuación de HCC
1.5
1.0
0.5
0.0
***
***
***
***
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M1
(***P<0.001 vs. FGF19)
Nivel de Suero FGF (mg/mL)
2000
1500
1000
500
0
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M1

FIG. 5B

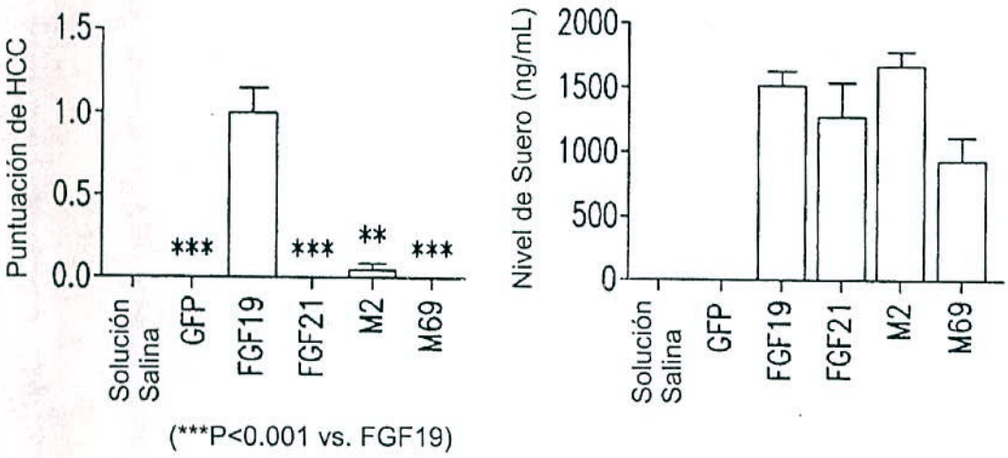

Puntuación de HCC
1.5
1.0
0.5
0.0
***
***
**
***
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M2
M69
(***P<0.001 vs. FGF19)
Nivel de Suero (ng/mL)
2000
1500
1000
500
0
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M2
M69

FIG. 5C

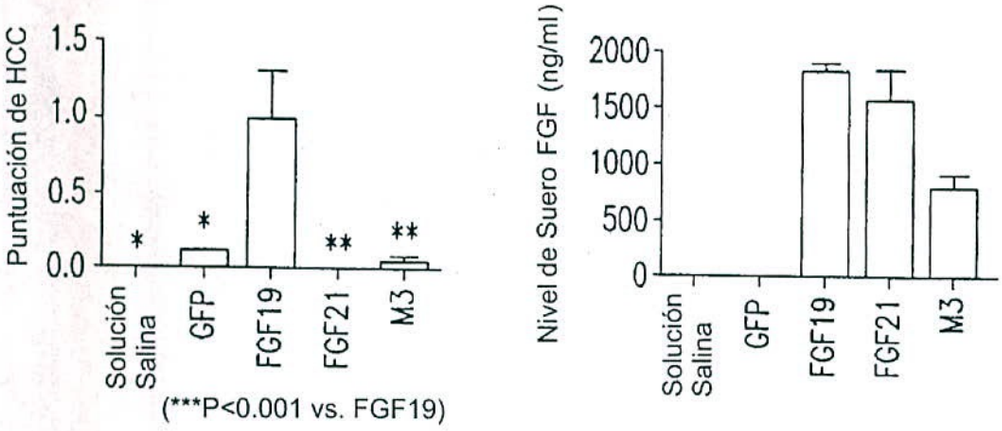

Puntuación de HCC
1.5
1.0
0.5
0.0
*
*
**
**
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M3
(***P<0.001 vs. FGF19)
Nivel de Suero FGF (ng/ml)
2000
1500
1000
500
0
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M3

FIG. 5D

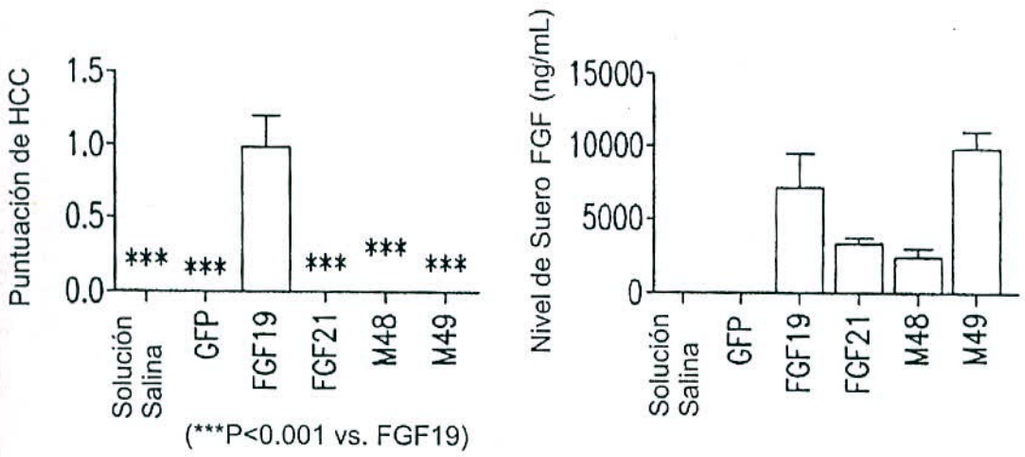

Puntuación de HCC
1.5
1.0
0.5
0.0
***
***
***
***
***
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M48
M49
(***P<0.001 vs. FGF19)
Nivel de Suero FGF (ng/mL)
15000
10000
5000
0
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M48
M49

FIG. 5E

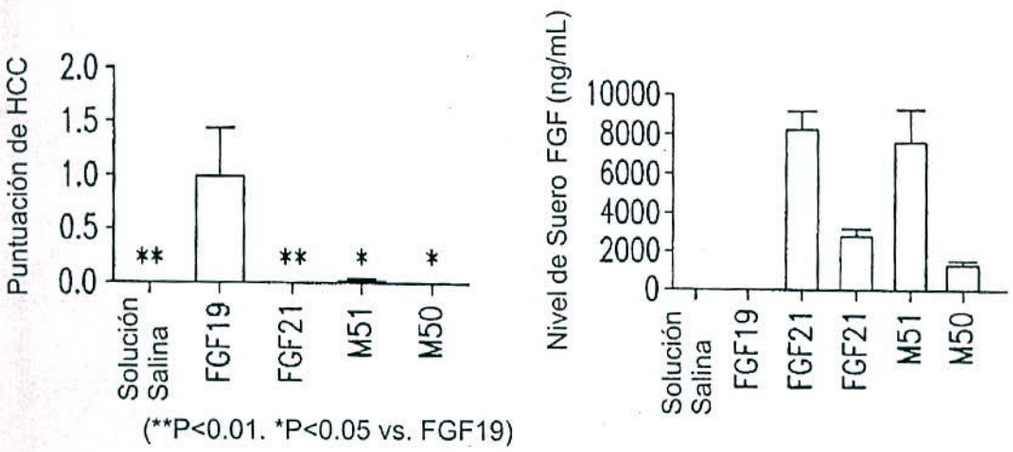

Puntuación de HCC
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
**
**
*
*
Solución Salina
FGF19
FGF21
M51
M50
(**P<0.01. *P<0.05 vs. FGF19)
Nivel de Suero FGF (ng/mL)
10000
8000
6000
4000
2000
0
Solución Salina
FGF19
FGF21
FGF21
M51
M50

FIG. 5F

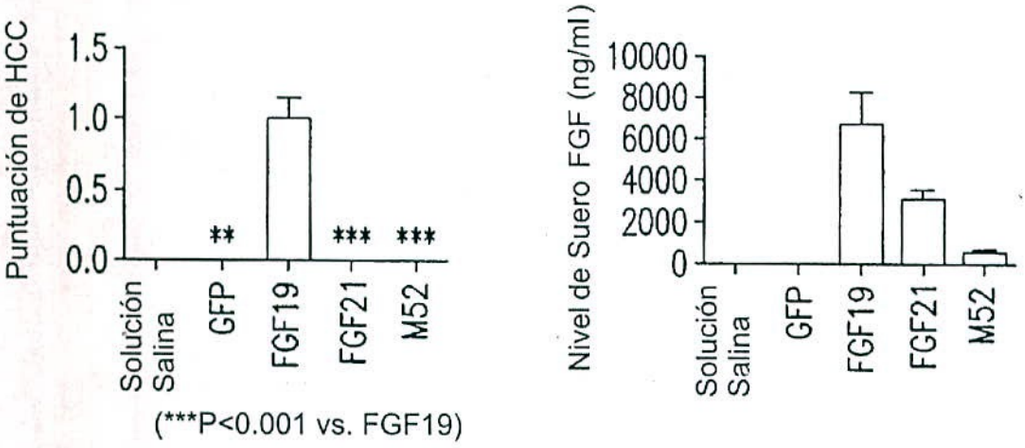

Puntuación de HCC
1.5
1.0
0.5
0.0
**
***
***
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M52
(***P<0.001 vs. FGF19)
Nivel de Suero FGF (ng/ml)
10000
8000
6000
4000
2000
0
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M52

FIG. 5G

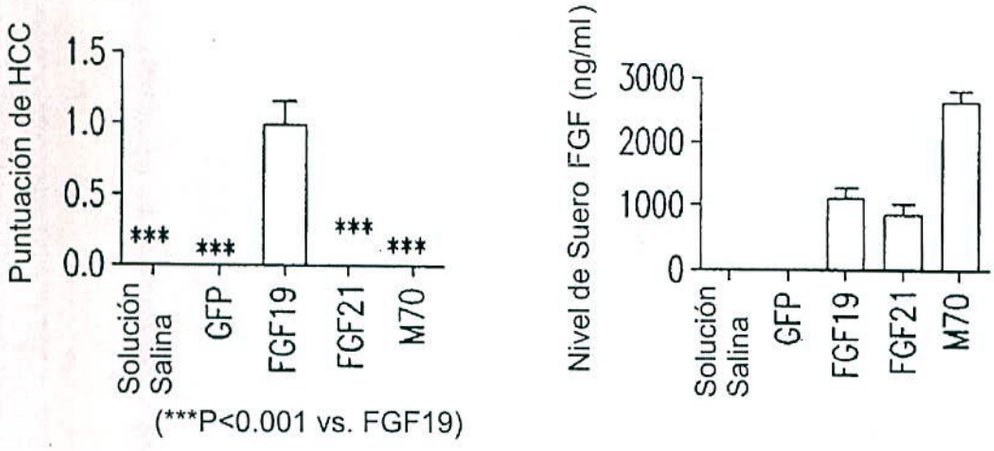

Puntuación de HCC
1.5
1.0
0.5
0.0
***
***
***
***
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M70
(***P<0.001 vs. FGF19)
Nivel de Suero FGF (ng/ml)
3000
2000
1000
0
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M70

FIG. 5H

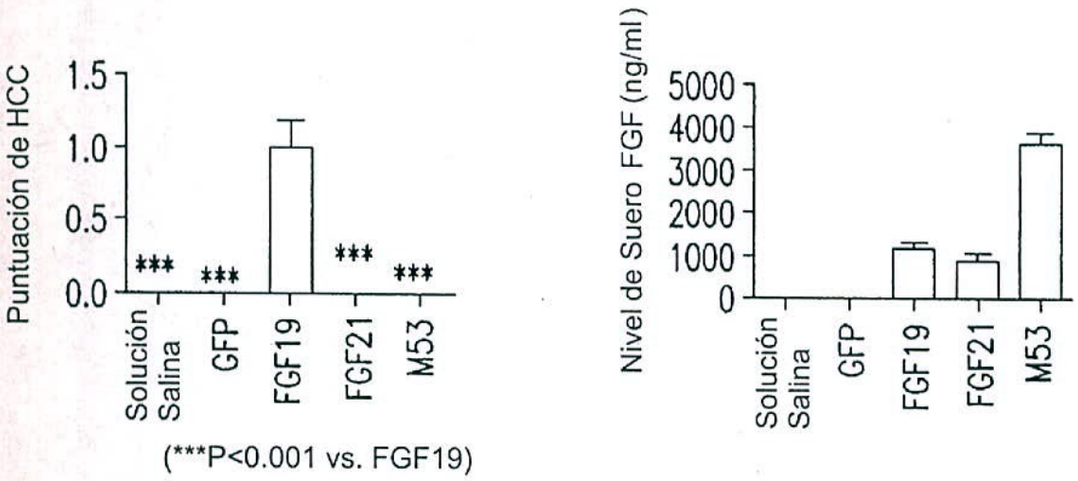
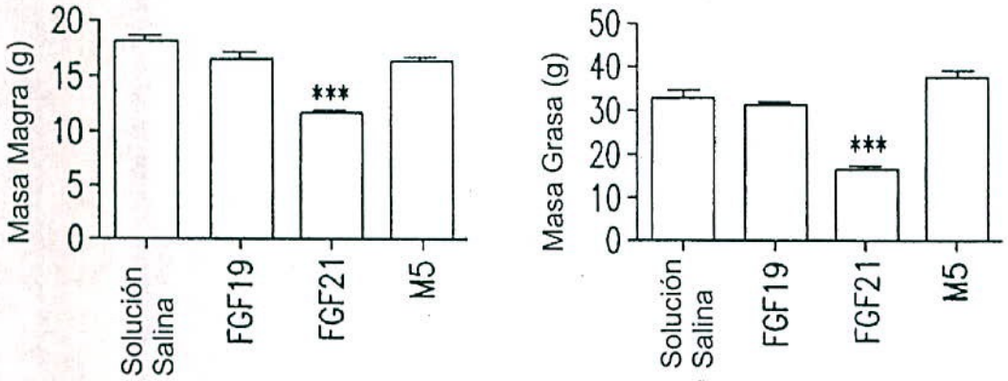
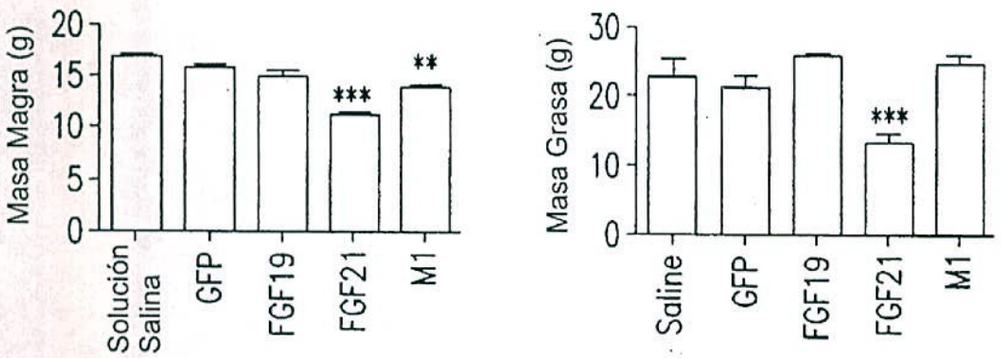

Puntuación de HCC
1.5
1.0
0.5
0.0
***
***
***
***
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M53
(***P<0.001 vs. FGF19)
Nivel de Suero FGF (ng/ml)
5000
4000
3000
2000
1000
0
Solución Salina
GFP
FGF19
FGF21
M53

FIG. 5I



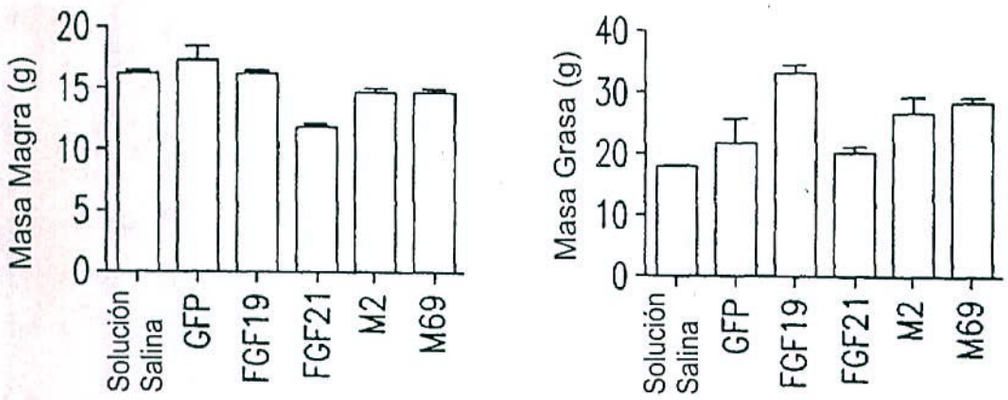
(***P<0.001 vs. Solución Salina)

FIG. 6A



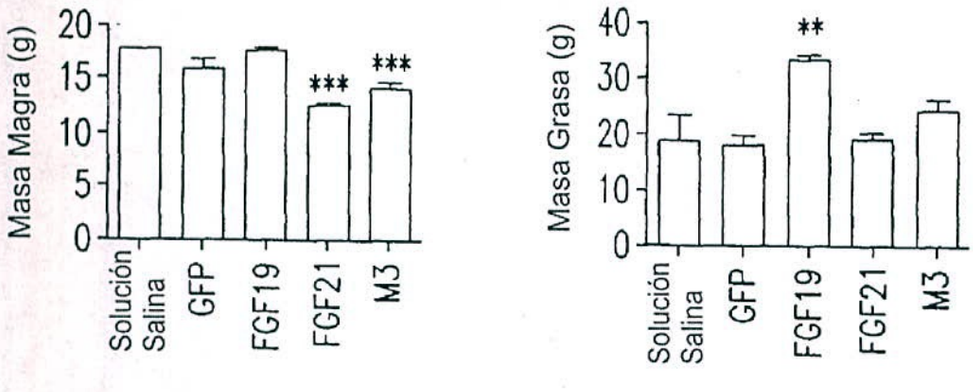
(***P<0.001 vs. Solución Salina)

FIG. 6B



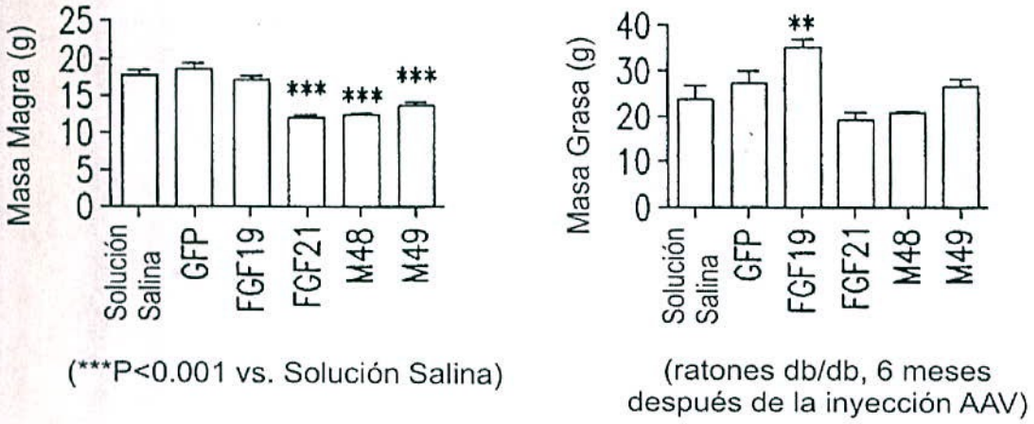
(***P<0.001 vs. Solución Salina)

FIG. 6C



(***P<0.001 vs. Solución Salina)

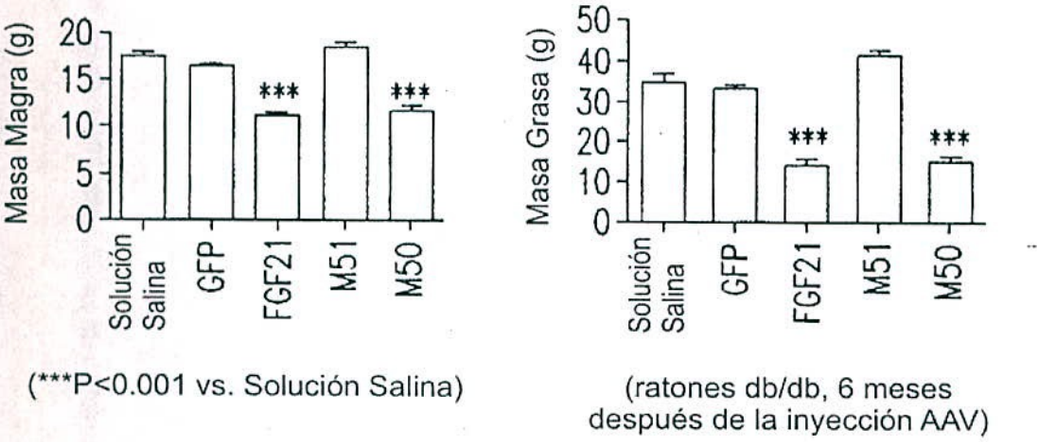
FIG. 6D



(***P<0.001 vs. Solución Salina)

(ratones db/db, 6 meses después de la inyección AAV)

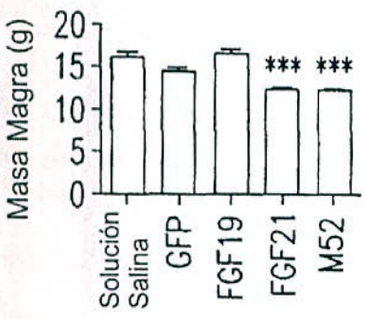
FIG. 6E



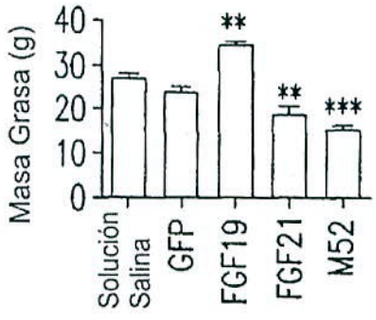
(***P<0.001 vs. Solución Salina)

(ratones db/db, 6 meses después de la inyección AAV)

FIG. 6F

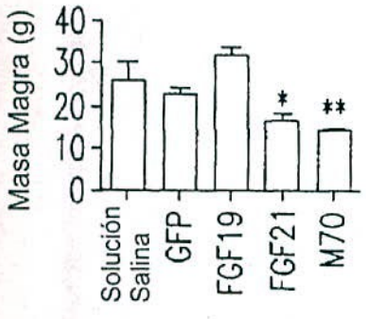


(***P<0.001 vs. Solución Salina)

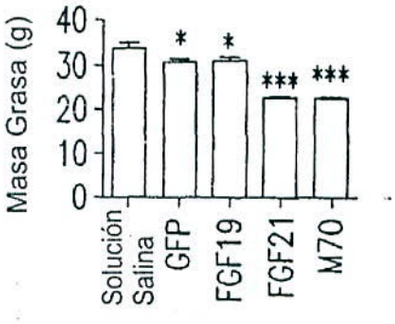


(ratones db/db, 6 meses después de la inyección AAV)

FIG. 6G

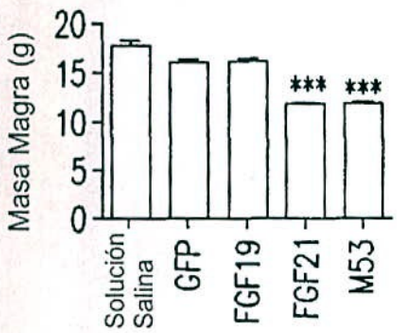


(***P<0.001 vs. Solución Salina)

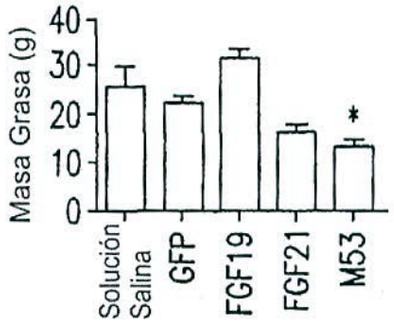


(ratones db/db, 6 meses después de la inyección AAV)

FIG. 6H



(***P<0.001 vs. Solución Salina)



(ratones db/db, 6 meses después de la inyección AAV)

FIG. 6I

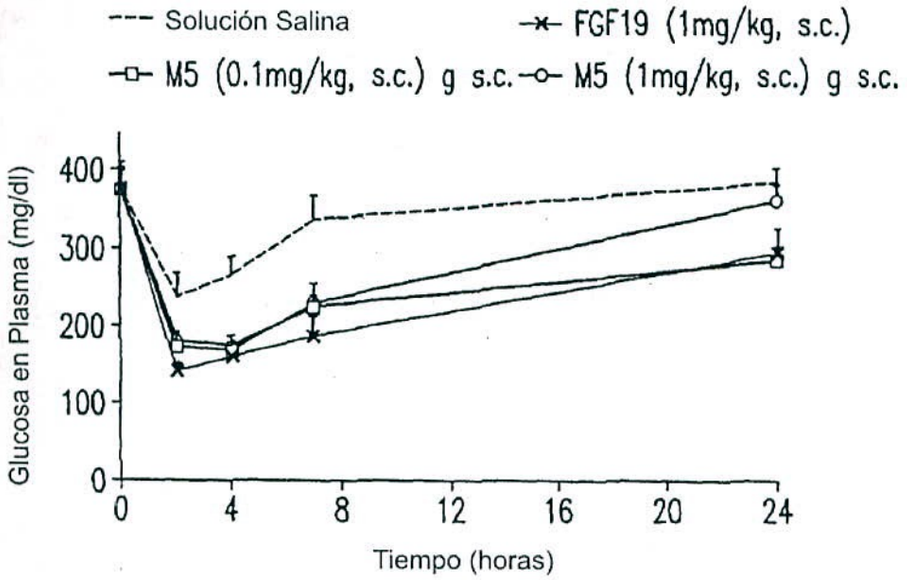

Solución Salina
FGF19 (1mg/kg, s.c.)
M5 (0.1mg/kg, s.c.) g s.c.
M5 (1mg/kg, s.c.) g s.c.
Glucosa en Plasma (mg/dl)
400
300
200
100
0
0
4
8
12
16
20
24
Tiempo (horas)

FIG. 7A

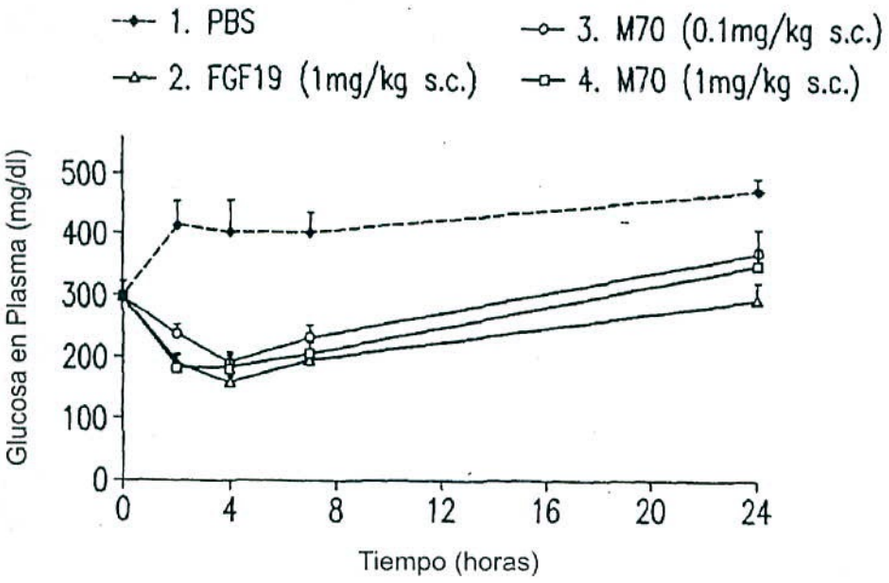

1. PBS
2. FGF19 (1mg/kg s.c.)
3. M70 (0.1mg/kg s.c.)
4. M70 (1mg/kg s.c.)
Glucosa en Plasma (mg/dl)
500
400
300
200
100
0
0
4
8
12
16
20
24
Tiempo (horas)

FIG. 7B

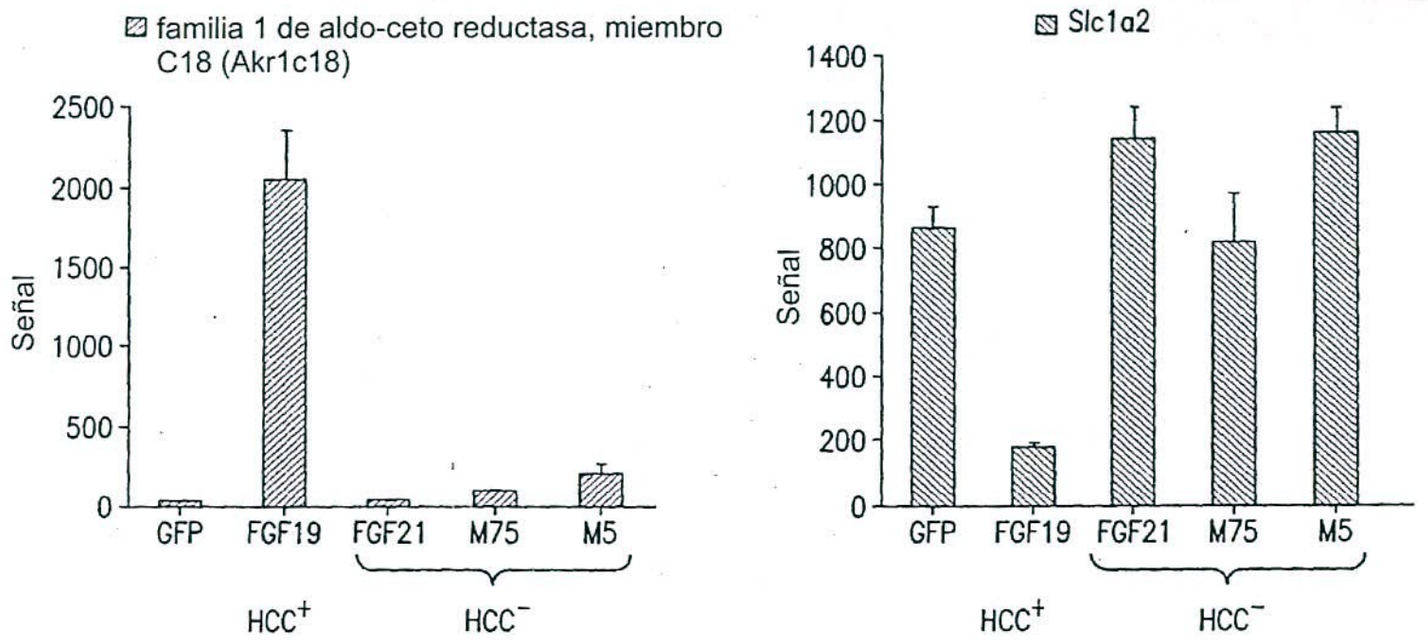

familia 1 de aldo-ceto reductasa, miembro C18 (Akr1c18)
Señal
2500
2000
1500
1000
500
0
GFP
FGF19
FGF21
M75
M5
HCC+
HCC−
Slc1a2
Señal
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
GFP
FGF19
FGF21
M75
M5
HCC+
HCC−

FIG. 8

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA
RELACIÓN DE ANEXOS

Dependencia: 2020	Fecha: ____/____/____ AAAA MM DD 13 12 27	Recorrido: 2
Tipo de Radicación: Entrada: X Salida: □ Traslado: □ Convenio: □		
Radicador:		Planilla:

ID	*No. Radicación*	*Consecutivo*	*Item*
1	13-300927	0	4.
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

Item	*Unidad de Conservación*
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre Y
5	Tomo
6	Otro
Item	*Soporte Documental*
7	CD
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
16	Otro

Observaciones:
Folio 218 anexan sobre con arte

219

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

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 13 - 135225

Bogotá D.C., Diciembre 27 de 2013 - 11:11:02

RECIBIDO DE : CASTILLO GRAU & ASOCIADOS LTDA. NI 800.098.704 RE

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR.PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	457324862	27/12/2013	9.870.000.00
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	457324873	27/12/2013	6.300.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCION	500.000.00	500.000.00
				$500.000.00

SON: **QUINIENTOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
-********-

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-300927- -00000-0000

Fecha: 2013-12-27 11:31:13 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 219

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-300927- -00000-0000

Fecha: 2013-12-27 11:31:13 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 219

PATENTE DE INVENCIÓN ☐ MODELO DE UTILIDAD ☐ Art 33 Decisión 486/00

- ☐ 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 ☐