

5 **[0001]** La presente solicitud reivindica la prioridad de la solicitud provisional estadounidense n.º 62/686,579, presentada el 18 de junio de 2018 y la solicitud provisional estadounidense n.º 62/746,338, presentada el 16 de octubre de 2018, la descripción de las cuales se incorpora a la presente mediante referencia en su totalidad a todos los fines.

10 ANTECEDENTES

[0002] La demencia frontotemporal (FTD, por sus siglas en inglés) es un trastorno neurodegenerativo progresivo que representa el 5-10 % de todos los pacientes con demencia y 10-20 % de los pacientes con una aparición de demencia antes de los 65 años de edad (Rademakers et ál., *Nat Rev Neurol.* 8(8):423-34, 2012). Si bien varios genes se han vinculado a la FTD, uno de los genes mutados con mayor frecuencia en la FTD es *GRN*, que se mapea al cromosoma humano 17q21 y codifica la proteína con alto contenido de cisteína progranulina (PGRN) (también conocida como proepitelina y acrogranina). Las mutaciones con gran penetración de *GRN* se informaron por primera vez en 2006 como causa de formas autosómicas dominantes de FTD familiar (Baker et ál., *Nature.* 442(7105):916-9, 2006; Cruts et ál., *Nature.* 2006 Aug 24;442(7105):920-4; Gass et ál., *Hum Mol Genet.* 15(20):2988-3001, 2006). Las estimaciones recientes sugieren que las mutaciones de *GRN* representan el 5-20 % de los pacientes con FTD con historial familiar positivo y 1-5 % de casos esporádicos (Rademakers et ál., *supra*).

25	DESCRIPCIÓN
----	-------------

[0003] Se proporcionan en la presente proteínas de fusión que comprenden un polipéptido de progranulina o una variante de este y métodos para utilizarlas para el tratamiento de trastornos asociados con la progranulina (por ejemplo, una enfermedad neurodegenerativa, tal como demencia frontotemporal (FTD)).

[0004] Un aspecto de la descripción incluye una proteína que comprende: (a) un dímero de polipéptidos Fc modificado que se une específicamente a Tfr; y (b) un polipéptido de progranulina. En algunas modalidades, la proteína se usa en la terapia. En algunas

modalidades, la proteína se usa en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa.

[0005] Otro aspecto de la descripción incluye una proteína que comprende: (a) un polipéptido Fc; y (b) un polipéptido de progranulina. En algunas modalidades del presente aspecto, el polipéptido Fc: (i) no incluye un dominio variable, (ii) incluye una región bisagra o bisagra parcial y/o (iii) incluye modificaciones tales que el polipéptido Fc se una específicamente al receptor de transferrina.

[0006] En otro aspecto, se proporciona en la presente una proteína que comprende: (a) un único polipéptido de progranulina o una variante de este; (b) un primer polipéptido Fc que se une al polipéptido de progranulina o su variante de (a); y (c) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc no incluyen una secuencia de región variable de cadena ligera y/o pesada de inmunoglobulina, ni una parte de unión al antígeno de esta. La proteína puede comprender exactamente un polipéptido de progranulina o una variante de este.

[0007] En algunas modalidades de este aspecto, el polipéptido de progranulina comprende una secuencia de aminoácidos con una identidad mayor que 90 %, o de al menos 95 % con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:212. En determinadas modalidades, el polipéptido de progranulina comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:212.

[0008] En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc está unido al polipéptido de progranulina o la variante de este a través de un enlace peptídico o enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el enlazador polipeptídico tiene una longitud de 1 a 50, 1 a 25, 1 a 20 o 1 a 10 aminoácidos. Por ejemplo, el enlazador polipeptídico puede tener una longitud de 3 a 50, 3 a 25, 5 a 50, 5 a 25, 5 a 20 o 10 a 25 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador polipeptídico es un enlazador polipeptídico flexible. El enlazador polipeptídico flexible puede ser un enlazador con alto contenido de glicina, por ejemplo, G₄S (SEQ ID NO:277) o (G₄S)₂ (SEQ ID NO:276).

[0009] En algunas modalidades, el extremo N o el extremo C del primer polipéptido Fc está unido al polipéptido de progranulina.

[0010] En otro aspecto, se proporciona en la presente una proteína que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un primer polipéptido de progranulina o una variante de este; y (b) un segundo polipéptido Fc unido específicamente a un segundo polipéptido de progranulina o una variante de este, donde el primer polipéptido Fc y el segundo polipéptido Fc forman un dímero de Fc y donde el primer polipéptido Fc y/o el

segundo polipéptido Fc se une específicamente a un receptor de transferrina.

[0011] En algunas modalidades de este aspecto, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc no incluyen una secuencia de región variable de cadena ligera y/o pesada de inmunoglobulina, ni una parte de unión al antígeno de esta.

- 5 **[0012]** En algunas modalidades, cada uno del primer y segundo polipéptidos de progranulina comprende una secuencia de aminoácidos con una identidad mayor que 90 %, o de al menos 95 % con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:212. En determinadas modalidades, cada uno del primer y el segundo polipéptidos de progranulina comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:212.
- 10 **[0013]** En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc está unido al primer polipéptido de progranulina o su variante a través de un enlace peptídico o enlazador polipeptídico, y donde el segundo polipéptido Fc está unido al segundo polipéptido de progranulina o su variante a través de un enlace peptídico o enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el enlazador polipeptídico tiene una longitud de 1 a 50, 1 a 25, 1 a 20 o 1 a 10 aminoácidos.
- 15 Por ejemplo, el enlazador polipeptídico puede tener una longitud de 3 a 50, 3 a 25, 5 a 50, 5 a 25, 5 a 20 o 10 a 25 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador polipeptídico es un enlazador polipeptídico flexible. El enlazador polipeptídico flexible puede ser un enlazador con alto contenido de glicina, por ejemplo, G₄S (SEQ ID NO:277) o (G₄S)₂ (SEQ ID NO:276). En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido
- 20 Fc no incluyen una secuencia de región variable de cadena ligera y/o pesada de inmunoglobulina, ni una parte de unión al antígeno de esta.
- [0014]** En algunas modalidades, el extremo N o el extremo C del primer polipéptido Fc está unido al primer polipéptido de progranulina, y el extremo N o el extremo C del segundo polipéptido Fc está unido al segundo polipéptido de progranulina.
- 25 **[0015]** En algunas modalidades, el extremo N del primer polipéptido Fc está unido al extremo C del primer polipéptido de progranulina, y el extremo N del segundo polipéptido Fc está unido al extremo C del segundo polipéptido de progranulina.
- [0016]** En algunas modalidades, el extremo N del primer polipéptido Fc está unido al extremo C del primer polipéptido de progranulina, y el extremo C del segundo polipéptido
- 30 Fc está unido al extremo N del segundo polipéptido de progranulina.
- [0017]** En algunas modalidades, el extremo C del primer polipéptido Fc está unido al extremo N del primer polipéptido de progranulina, y el extremo C del segundo polipéptido Fc está unido al extremo N del segundo polipéptido de progranulina.
- [0018]** En algunas modalidades de los dos aspectos que anteceden, el primer polipéptido

Fc es un polipéptido Fc modificado y/o el segundo polipéptido Fc es un polipéptido Fc modificado. En algunas modalidades, cada uno del primer polipéptido Fc y el segundo polipéptido Fc contiene modificaciones que promueven la heterodimerización. En algunas modalidades, el dímero de Fc es un heterodímero de Fc.

- 5 **[0019]** En algunas modalidades de los dos aspectos que anteceden, uno de los polipéptidos Fc tiene una sustitución T366W y el otro polipéptido Fc tiene sustituciones T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con la numeración EU. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc contiene las sustituciones T366S, L368A e Y407V y el segundo polipéptido Fc contiene la sustitución T366W.
- 10 **[0020]** En algunas modalidades del primer aspecto, el primer polipéptido Fc está unido al polipéptido de progranulina y comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:213, 214, 225 y 226, y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:261.
[0021] En algunas modalidades del segundo aspecto, el primer polipéptido Fc está unido
15 al primer polipéptido de progranulina y comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:213, 214, 225 y 226, y el segundo polipéptido Fc está unido al segundo polipéptido de progranulina y comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:237, 238, 249 y 250.
[0022] En algunas modalidades de los dos aspectos que anteceden, el primer polipéptido
20 Fc contiene la sustitución T366W y el segundo polipéptido Fc contiene las sustituciones T366S, L368A e Y407V.
[0023] En algunas modalidades del primer aspecto, el primer polipéptido Fc está unido al polipéptido de progranulina y comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:237, 238, 249 y 250, y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de
25 la SEQ ID NO:267.
[0024] En algunas modalidades del segundo aspecto, el primer polipéptido Fc está unido al primer polipéptido de progranulina y comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:237, 238, 249 y 250, y el segundo polipéptido Fc está unido al segundo polipéptido de progranulina y comprende la secuencia de aminoácidos de
30 cualquiera de las SEQ ID NO:213, 214, 225 y 226.
[0025] En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc comprende un sitio de unión a FcRn natural.
[0026] En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc y el segundo polipéptido Fc no tienen función efectora.

[0027] En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc incluyen una modificación que reduce la función efectora. En determinadas modalidades, la modificación que reduce la función efectora es la sustitución de Ala en la posición 234 y Ala en la posición 235, de acuerdo con la numeración EU.

5 **[0028]** En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc comprenden cambios de aminoácidos con respecto a la secuencia Fc natural que extiende la semivida en suero. En determinadas modalidades, los cambios de aminoácidos comprenden sustituciones de Leu en la posición 428 y Ser en la posición 434, de acuerdo con la numeración EU. En determinadas modalidades, los cambios de aminoácidos
10 comprenden una sustitución de Ser o Ala en la posición 434, de acuerdo con la numeración EU.

[0029] En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc se unen específicamente a un receptor de transferrina. En determinadas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc se unen al dominio apical del receptor
15 de transferrina.

[0030] En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc comprenden al menos dos sustituciones en las posiciones seleccionadas del grupo que consiste en 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 y 421, de acuerdo con la numeración EU. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc
20 incluyen sustituciones al menos tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o nueve de las posiciones. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc comprenden además una, dos, tres o cuatro sustituciones en las posiciones que comprenden 380, 391, 392 y 415, de acuerdo con la numeración EU. En determinadas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc comprenden además
25 una, dos o tres sustituciones en las posiciones que comprenden 414, 424 y 426, de acuerdo con la numeración EU. En modalidades particulares, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc comprenden Trp en la posición 388. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc comprenden un aminoácido aromático en la posición 421 (por ejemplo, Trp o Phe en la posición 421).

30 **[0031]** En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc comprenden al menos una posición que se selecciona de las siguientes: la posición 380 es Trp, Leu o Glu; la posición 384 es Tyr o Phe; la posición 386 es Thr; la posición 387 es Glu; la posición 388 es Trp; la posición 389 es Ser, Ala, Val o Asn; la posición 390 es Ser o Asn; la posición 413 es Thr o Ser; la posición 415 es Glu o Ser; la posición 416 es Glu; y la

posición 421 es Phe.

[0032] En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc comprenden 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11 posiciones que se seleccionan de las siguientes: la posición 380 es Trp, Leu o Glu; la posición 384 es Tyr o Phe; la posición 386 es Thr; la posición 387 es Glu; la posición 388 es Trp; la posición 389 es Ser, Ala, Val o Asn; la posición 390 es Ser o Asn; la posición 413 es Thr o Ser; la posición 415 es Glu o Ser; la posición 416 es Glu; y la posición 421 es Phe. En determinadas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc comprenden 11 posiciones de la siguiente manera: la posición 380 es Trp, Leu o Glu; la posición 384 es Tyr o Phe; la posición 386 es Thr; la posición 387 es Glu; la posición 388 es Trp; la posición 389 es Ser, Ala, Val o Asn; la posición 390 es Ser o Asn; la posición 413 es Thr o Ser; la posición 415 es Glu o Ser; la posición 416 es Glu; y la posición 421 es Phe.

[0033] En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc tienen un dominio CH3 con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a los aminoácidos 111-217 de cualquiera de las SEQ ID NO:34-38, 58, 60-90, 136 y 137-210.

[0034] En determinadas modalidades, los residuos de al menos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 de las posiciones correspondientes a las posiciones del índice EU 380, 384, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 413, 414, 415, 416, 421, 424 y 426 de cualquiera de las SEQ ID NO:34-38, 58, 60-90, 136 y 137-210 no se eliminan ni sustituyen. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc comprenden la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:136-210. En determinadas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc comprenden la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:136, 138, 150, 162, 174, 186 y 198. En determinadas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc comprenden la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:150. En determinadas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc comprenden la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:136.

[0035] En algunas modalidades, la unión la proteína al receptor de transferrina no inhibe sustancialmente la unión de la transferrina al receptor de transferrina.

[0036] En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc tiene una identidad de la secuencia de aminoácidos de al menos 75 %, o al menos 80 %, 85 %, 90 %, 92 % o 95 %, en comparación con el polipéptido Fc de tipo salvaje correspondiente. El polipéptido Fc de tipo salvaje correspondiente es un polipéptido Fc de

IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 humana.

[0037] En algunas modalidades, la absorción del polipéptido de progranulina en el cerebro es al menos diez veces mayor en comparación con la absorción del polipéptido de progranulina en ausencia del primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc, o en
5 comparación con la absorción del polipéptido de progranulina sin las modificaciones del primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc que dan como resultado la unión al receptor de transferrina.

[0038] En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc no se modifica para unirse a un receptor de la barrera hematoencefálica y el segundo polipéptido Fc se modifica para unirse
10 específicamente a un receptor de transferrina. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc se modifica para unirse específicamente a un receptor de transferrina y el segundo polipéptido Fc no se modifica para unirse a un receptor de la barrera hematoencefálica.

[0039] En algunas modalidades, el polipéptido de progranulina o la variante de este se
15 une a la sortilina o prosaposina. En modalidades particulares, el polipéptido de progranulina o la variante de este se une a la sortilina.

[0040] En otro aspecto, se proporciona en la presente una proteína que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el
20 primer polipéptido Fc, donde el primer polipéptido Fc comprende mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y el segundo polipéptido Fc comprende una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

[0041] En algunas modalidades, (a) comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:213, 214, 225 y 226, y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:261.

[0042] En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende además
25 mutaciones de unión a TfR.

[0043] En algunas modalidades, (a) comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:213, 214, 225 y 226, y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:273.

[0044] En otro aspecto, se proporciona en la presente una proteína que comprende: (a)
30 un primer polipéptido Fc que se une a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, donde el primer polipéptido Fc comprende una mutación de botón T366W y el segundo polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

[0045] En algunas modalidades, (a) comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:237, 238, 249 y 250, y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:267.

[0046] En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc comprende además mutaciones de unión a TfR.

5 **[0047]** En algunas modalidades, (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:274 o 275 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:267.

[0048] En otro aspecto, se proporciona en la presente una proteína que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une a un primer polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc unido a un segundo polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico, donde el primer y segundo polipéptidos Fc forman un dímero de Fc, el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, el segundo polipéptido Fc comprende una mutación de botón T366W, y donde el extremo N del primer polipéptido de progranulina se une al extremo C del primer polipéptido Fc a través del enlazador polipeptídico y el extremo N del segundo polipéptido de progranulina se une al extremo C del segundo polipéptido Fc a través del enlazador polipeptídico.

[0049] En algunas modalidades, (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:213 o 214 y (b) comprende la secuencia de las SEQ ID NO:237 o 238.

20 **[0050]** En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende además mutaciones de unión a TfR.

[0051] En algunas modalidades, (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:213 o 214 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:274.

25 **[0052]** En otro aspecto, se proporciona en la presente una proteína que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une a un primer polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc unido a un segundo polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico, donde el primer y segundo polipéptidos Fc forman un dímero de Fc, el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, el segundo polipéptido Fc comprende una mutación de botón T366W, y donde el extremo C del primer polipéptido de progranulina se une al extremo N del primer polipéptido Fc a través del enlazador polipeptídico y el extremo C del segundo polipéptido de progranulina se une al extremo N del segundo polipéptido Fc a través del enlazador polipeptídico.

30 **[0053]** En algunas modalidades, (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:225 o 226 y (b) comprende la secuencia de las SEQ ID NO:249 o 250.

[0054] En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende además mutaciones de unión a TfR.

[0055] En algunas modalidades, (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:225 o 226 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:275.

5 **[0056]** En otro aspecto, se proporciona en la presente una proteína que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une a un primer polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc unido a un segundo polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico, donde el primer y segundo polipéptidos Fc forman un dímero de Fc, el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal
10 T366S, L368A e Y407V, el segundo polipéptido Fc comprende una mutación de botón T366W, y donde el extremo N del primer polipéptido de progranulina se une al extremo C del primer polipéptido Fc a través del enlazador polipeptídico y el extremo C del segundo polipéptido de progranulina se une al extremo N del segundo polipéptido Fc a través del enlazador polipeptídico.

15 **[0057]** En algunas modalidades, (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:213 o 214 y (b) comprende la secuencia de las SEQ ID NO:249 o 250.

[0058] En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc comprende además mutaciones de unión a TfR.

20 **[0059]** En algunas modalidades, (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:213 o 214 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:275.

[0060] En otro aspecto, se proporciona en la presente una proteína que comprende: (a) un primer polipéptido Fc que se une a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, donde el primer polipéptido Fc comprende mutaciones de ojal T366S,
25 L368A e Y407V y el segundo polipéptido Fc comprende una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y mutaciones de unión a TfR.

[0061] En algunas modalidades de este aspecto, (a) comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:213, 214, 225 y 226, y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:281.

30 **[0062]** En algunas modalidades de este aspecto, (a) comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:213, 214, 225 y 226, y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:286.

[0063] En algunas modalidades de este aspecto, el segundo polipéptido Fc comprende además las mutaciones L234A y L235A con o sin la mutación P329G, y/o las mutaciones

M428L y N434S, de acuerdo con el esquema de numeración EU. En modalidades particulares, (a) comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:213, 214, 225 y 226, y (b) comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:210 y 282-285. En modalidades particulares, (a) comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:213, 214, 225 y 226, y (b) comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:209 y 287-290. En modalidades particulares, (a) comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:213, 214, 225 y 226, y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 291.

[0064] En algunas modalidades de este aspecto, el primer polipéptido Fc comprende además las mutaciones L234A y L235A con o sin la mutación P329G, y/o las mutaciones M428L y N434S, de acuerdo con el esquema de numeración EU. En modalidades particulares, (a) comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:215-224 y 227-236, y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:281. En modalidades particulares, (a) comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:215-224 y 227-236, y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:286.

[0065] En algunas modalidades de este aspecto, cada uno del primer y segundo polipéptidos Fc comprende además las mutaciones L234A y L235A con o sin la mutación P329G, y/o las mutaciones M428L y N434S, de acuerdo con el esquema de numeración EU. En modalidades particulares, (a) comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:215-224 y 227-236, y (b) comprende la secuencia de las SEQ ID NO:210 y 282-285. En modalidades particulares, (a) comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:215-224 y 227-236, y (b) comprende la secuencia de las SEQ ID NO:209 y 287-290. En modalidades particulares, (a) comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:215-224 y 227-236, y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:291.

[0066] En modalidades particulares, (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:215 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:210. En modalidades particulares, (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:227 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:210. En modalidades particulares, (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:215 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:291. En modalidades particulares, (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:227 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:291.

[0067] En otro aspecto, se proporciona en la presente un polipéptido que comprende un polipéptido Fc que se une a un polipéptido de progranulina o una variante de este, donde el polipéptido Fc contiene una o más modificaciones que promueven su heterodimerización a otro polipéptido Fc.

[0068] En algunas modalidades, el polipéptido de progranulina comprende una secuencia de aminoácidos con una identidad mayor que 90 % o de al menos 95 % con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:212. En determinadas modalidades, el polipéptido de progranulina comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:212.

5 **[0069]** En algunas modalidades, el polipéptido Fc está unido al polipéptido de progranulina o la variante de este a través de un enlace peptídico o enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el enlazador polipeptídico tiene una longitud de 1 a 50, 1 a 25, 1 a 20 o 1 a 10 aminoácidos. Por ejemplo, el enlazador polipeptídico puede tener una longitud de 3 a 50, 3 a 25, 5 a 50, 5 a 25, 5 a 20 o 10 a 25 aminoácidos. En determinadas
10 modalidades, el enlazador polipeptídico es un enlazador polipeptídico flexible. El enlazador polipeptídico flexible puede ser un enlazador con alto contenido de glicina (por ejemplo, G₄S (SEQ ID NO:277) o (G₄S)₂ (SEQ ID NO:276)).

[0070] En algunas modalidades, el extremo N o el extremo C del polipéptido Fc está unido al polipéptido de progranulina.

15 **[0071]** En algunas modalidades, el polipéptido Fc contiene las sustituciones T366S, L368A e Y407V de acuerdo con la numeración EU.

[0072] En algunas modalidades, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:213, 214, 225 y 226.

[0073] En determinadas modalidades, el polipéptido Fc contiene una sustitución T366W.

20 **[0074]** En algunas modalidades, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:237, 238, 249 y 250.

[0075] En algunas modalidades, el polipéptido Fc comprende una modificación que reduce la función efectora. En determinadas modalidades, la modificación que reduce la función efectora es la sustitución de Ala en la posición 234 y Ala en la posición 235, de
25 acuerdo con la numeración EU.

[0076] En algunas modalidades, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:215, 216, 227, 228, 239, 240, 251 y 252.

[0077] En algunas modalidades, el polipéptido Fc comprende cambios de aminoácidos con respecto a la secuencia Fc natural que extiende la semivida en suero. En algunas
30 modalidades, los cambios de aminoácidos comprenden sustituciones de Leu en la posición 428 y Ser en la posición 434, de acuerdo con la numeración EU.

[0078] En algunas modalidades, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:219-222, 231-234, 243-246 y 255-258.

[0079] En algunas modalidades, el polipéptido Fc comprende además mutaciones de

unión a TfR.

[0080] En algunas modalidades, el polipéptido de progranulina o la variante de este se une a la sortilina o prosaposina. En modalidades particulares, el polipéptido de progranulina o la variante de este se une a la sortilina.

5 **[0081]** En otro aspecto, se proporciona en la presente un método para el tratamiento de un trastorno asociado con la progranulina, donde el método comprende administrar una proteína o polipéptido descritos en la presente a un paciente que lo necesite, donde el trastorno asociado con la progranulina se selecciona del grupo que consiste en una enfermedad neurodegenerativa, aterosclerosis, un trastorno asociado con TDP-43 y
10 degeneración macular asociada con la edad (AMD, por sus siglas en inglés).

[0082] En otro aspecto, se proporciona en la presente un método para aumentar la cantidad de un polipéptido de progranulina o variante de este en un paciente con un trastorno asociado con la progranulina, donde el método comprende administrar una proteína o polipéptido descritos en la presente al paciente, donde el trastorno asociado con
15 la progranulina se selecciona del grupo que consiste en una enfermedad neurodegenerativa, aterosclerosis, un trastorno asociado con TDP-43 y degeneración macular asociada con la edad (AMD).

[0083] En otro aspecto, se proporciona en la presente un método para disminuir la actividad de catepsina D en un paciente con un trastorno asociado con la progranulina, donde el método comprende administrar una proteína o polipéptido descritos en la presente al paciente, donde el trastorno asociado con la progranulina se selecciona del grupo que
20 consiste en una enfermedad neurodegenerativa, aterosclerosis, un trastorno asociado con TDP-43 y degeneración macular asociada con la edad (AMD).

[0084] En otro aspecto, se proporciona en la presente un método para aumentar la degradación lisosomal en un paciente con un trastorno asociado con la progranulina, donde el método comprende administrar una proteína o polipéptido descritos en la presente al paciente, donde el trastorno asociado con la progranulina se selecciona del grupo que
25 consiste en una enfermedad neurodegenerativa, aterosclerosis, un trastorno asociado con TDP-43 y degeneración macular asociada con la edad (AMD).

30 **[0085]** En algunas modalidades de los métodos descritos en la presente, el trastorno asociado con la progranulina es una enfermedad neurodegenerativa. En algunas modalidades de los métodos descritos en la presente, la enfermedad neurodegenerativa se selecciona del grupo que consiste en demencia frontotemporal (FTD), lipofuscinosis cerioide neuronal (NCL, por sus siglas en inglés), enfermedad de Niemann-Pick de tipo A (NPA),

enfermedad de Niemann-Pick de tipo B (NPB), enfermedad de Niemann-Pick de tipo C (NPC), esclerosis lateral amiotrófica (ALS, por sus siglas en inglés) asociada con C9ORF72/FTD, ALS esporádica, enfermedad de Alzheimer (AD, por sus siglas en inglés), enfermedad de Gaucher (por ejemplo, enfermedades de Gaucher de tipo 2 y 3) y enfermedad de Parkinson. En algunas modalidades, la enfermedad neurodegenerativa es demencia frontotemporal (FTD).

[0086] En algunas modalidades, el paciente tiene una mutación en un gen que codifica el polipéptido de progranulina.

[0087] En otro aspecto, se proporciona en la presente una composición farmacéutica que comprende cualquiera de las proteínas descritas en la presente o cualquiera de los péptidos descritos en la presente y un portador farmacéuticamente aceptable.

[0088] En otro aspecto, se proporciona un método para evaluar un compuesto o controlar la respuesta de un sujeto a un compuesto, composición farmacéutica o régimen de dosificación de este (por ejemplo, respuesta a una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN descrita en la presente) para el tratamiento de un trastorno asociado con la progranulina, donde el método comprende: (a) medir una abundancia de una o más especies de bis(monoacilglicero)fosfato (BMP) en una muestra de ensayo de un sujeto que padece de un trastorno asociado con la progranulina, donde la muestra de ensayo o sujeto se trató con el compuesto o composición farmacéutica de este (por ejemplo, se trató con una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN descrita en la presente); (b) comparar la diferencia de la abundancia entre la o las especies de BMP medidas en (a) y uno o más valores de referencia; y (c) determinar, a partir de la comparación, si el compuesto, composición farmacéutica o régimen de dosificación de este (por ejemplo, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN descrita en la presente) mejora los niveles de una o más especies de BMP para el tratamiento de un trastorno asociado con la progranulina.

[0089] En algunas modalidades, los métodos proporcionados en la presente comprenden además tratar otra muestra de ensayo o sujeto con otro compuesto y seleccionar un compuesto candidato que mejore los niveles de una o más especies de BMP.

[0090] En algunas modalidades, los métodos proporcionados en la presente comprenden además (d) mantener o ajustar la cantidad o frecuencia de administración del compuesto (por ejemplo, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN descrita en la presente) a la muestra de ensayo o sujeto; y (e) administrar el compuesto a la muestra de ensayo o al sujeto.

[0091] En otro aspecto, se proporciona un método para identificar a un sujeto que padece

o presenta riesgo de padecer un trastorno asociado con la progranulina, donde el método comprende: (a) medir la abundancia de una o más especies de BMP en una muestra de ensayo del sujeto; (b) comparar la diferencia de la abundancia entre la o las especies de BMP medidas en (a) y uno o más valores de referencia; y (c) determinar, a partir de la comparación, si el sujeto tiene un trastorno asociado con la progranulina.

[0092] En algunas modalidades, los métodos proporcionados en la presente comprenden además administrar al sujeto un compuesto (por ejemplo, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN descrita en la presente) para mejorar los niveles de la o las especies de BMP para el tratamiento de un trastorno asociado con la progranulina. En algunas modalidades, al menos uno o más signos o síntomas de un trastorno asociado con la progranulina mejoran después del tratamiento.

[0093] En algunas modalidades, el tratamiento comprende administrar progranulina, un derivado de esta o una composición farmacéutica de esta (por ejemplo, administrar una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN descrita en la presente) al sujeto. En algunas modalidades, el derivado de progranulina contiene un resto químico o fragmento peptídico que permite que la progranulina cruce la barrera hematoencefálica (por ejemplo, un derivado de progranulina tal como una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN descrita en la presente). En algunas modalidades, el tratamiento comprende administrar una biblioteca de compuestos a múltiples sujetos o muestras de ensayo.

[0094] En algunas modalidades, el valor de referencia se mide en una muestra de referencia obtenida de un sujeto de referencia o una población de sujetos de referencia. En algunas modalidades, el valor de referencia es la abundancia de la o las especies de BMP medida en una muestra de referencia. En algunas modalidades, la muestra de referencia es el mismo tipo de célula, tejido o fluido que la muestra de ensayo. En algunas modalidades, se miden al menos dos valores de referencia de distintos tipos de célula, tejido o fluido.

[0095] En algunas modalidades, la muestra de referencia es un control saludable. En algunas modalidades, el sujeto de referencia o población de sujetos de referencia no tienen un trastorno asociado con la progranulina ni un nivel menor de progranulina. En algunas modalidades particulares, el sujeto de referencia o población de sujetos de referencia no tienen ningún signo ni síntoma de tal trastorno.

[0096] En algunas modalidades, los niveles de especies de BMP son mayores en macrófagos derivados de médula ósea que se derivan *in vitro* de células de la médula ósea de un sujeto que padece, o corre riesgo de padecer, un trastorno asociado con la

progranulina en comparación con un control saludable o un control no relacionado con un trastorno asociado con la progranulina.

[0097] En algunas modalidades, los niveles de especies de BMP son menores en el hígado, cerebro, líquido cefalorraquídeo, plasma u orina de un sujeto que padece, o corre riesgo de padecer, un trastorno asociado con la progranulina en comparación con un control saludable o un control no relacionado con un trastorno asociado con la progranulina.

[0098] En algunas modalidades, la abundancia de una especie de BMP en la muestra de ensayo de un sujeto que padece, o corre riesgo de padecer, un trastorno asociado con la progranulina tiene una diferencia de al menos alrededor de 1,2 veces, 1,5 veces o 2 veces en comparación con un valor de referencia de un control tal como un control saludable o un control no relacionado con un trastorno asociado con la progranulina. En otras modalidades, la abundancia de una especie de BMP en la muestra de ensayo de un sujeto que padece, o corre riesgo de padecer, un trastorno asociado con la progranulina tiene una diferencia de alrededor de 1,2 veces a alrededor de 4 veces en comparación con un valor de referencia de un control tal como un control saludable o un control no relacionado con un trastorno asociado con la progranulina. En algunas modalidades, la diferencia comparada con un valor de referencia es de alrededor de 2 veces a alrededor de 3 veces. En algunas modalidades, el sujeto tiene un trastorno asociado con un nivel reducido de progranulina y/o uno o más signos o síntomas de un trastorno asociado con un nivel reducido de progranulina.

[0099] En algunas modalidades, el valor de referencia es el valor de la especie de BMP antes del tratamiento. En algunas modalidades, el sujeto recibe tratamiento para un nivel reducido de progranulina o un trastorno asociado con la progranulina, y la muestra de ensayo comprende una o más muestras de ensayo previas al tratamiento que se obtienen del sujeto antes del comienzo del tratamiento y una o más muestras de ensayo posteriores al tratamiento que se obtienen del sujeto después de haber comenzado el tratamiento. En algunas modalidades, el método comprende además determinar que el sujeto responde al tratamiento cuando la abundancia de al menos una de la o las especies de BMP después del tratamiento muestra una mejora con respecto a la o las especies de BMP antes del tratamiento en comparación con un control saludable.

[0100] En algunas modalidades, los métodos comprenden (a) medir una abundancia de una o más especies de bis(monoacilglicero)fosfato (BMP) en una muestra de ensayo obtenida de un sujeto; (b) tratar a la muestra de ensayo o al sujeto con un compuesto, composición farmacéutica o régimen de dosificación de este (por ejemplo, tratar a la

muestra de ensayo o al sujeto con una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN descrita en la presente); (c) medir una abundancia de una o más especies de BMP en una muestra de ensayo obtenida del sujeto tratado; (d) comparar la abundancia de la o las especies de BMP medida en las etapas (a) y (c); y (e) determinar si el compuesto o un régimen de dosificación mejora los niveles de BMP para el tratamiento de un trastorno asociado con la progranulina.

[0101] En algunas modalidades, se obtienen dos o más muestras de ensayo posteriores al tratamiento en puntos temporales distintos después de haber comenzado el tratamiento, y el método comprende además determinar que el sujeto responde al tratamiento cuando la abundancia de al menos una de las especies de BMP medida en una muestra posterior al tratamiento es a) menor en macrófagos derivados de la médula ósea (BMDM, por sus siglas en inglés) o b) mayor en el hígado, cerebro, líquido cefalorraquídeo, plasma u orina que la abundancia de las especies de BMP correspondientes medida en la muestra previa al tratamiento. En algunas modalidades, se determina que el sujeto responde al tratamiento cuando la abundancia de al menos una de las especies de BMP medida en una muestra posterior al tratamiento es a) al menos alrededor de 1,2 veces menor en BMDM o b) al menos alrededor de 1,2 veces mayor en el hígado, cerebro, líquido cefalorraquídeo, plasma u orina que la abundancia de la o las especies de BMP correspondientes medida en la muestra previa al tratamiento.

[0102] En algunas modalidades, el nivel mejorado de las especies de BMP es una mejora con respecto al nivel de las especies de BMP previo al tratamiento con respecto al valor de referencia de un control tal como un control saludable o un control no relacionado con un trastorno asociado con la progranulina. En algunas modalidades, valor del nivel mejorado de las especies de BMP es más cercano al control que el nivel de las especies de BMP previo al tratamiento con respecto al control. En algunas modalidades, el nivel mejorado de las especies de BMP tiene una diferencia en comparación con el control menor que 15 %, 10 % o 5 %. En algunas modalidades, el nivel mejorado de las especies de BMP tiene una diferencia en comparación con un control saludable menor que 10 % o 5 %. En algunas modalidades, el nivel mejorado de las especies de BMP tiene una diferencia en comparación con un control saludable menor que 5 %.

[0103] En algunas modalidades, el método comprende además determinar que el sujeto responde al tratamiento cuando la abundancia de al menos una de la o las especies de BMP medida en al menos una de las muestras de ensayo posterior al tratamiento es aproximadamente igual al valor de referencia correspondiente a un control saludable.

[0104] En algunas modalidades, la muestra de ensayo o de referencia, o uno o más valores de referencia, comprende o se relaciona a una célula, tejido, sangre entera, plasma, suero, líquido cefalorraquídeo, líquido intersticial, esputo, orina, heces, líquido de lavado broncoalveolar, linfa, semen, leche materna, líquido amniótico o una combinación de estos.

5 En algunas modalidades, la célula es una célula mononuclear de sangre periférica (PBMC, por sus siglas en inglés), un macrófago derivado de médula ósea (BMDM), una célula de epitelio pigmentario de la retina (RPE, por sus siglas en inglés), una célula sanguínea, un eritrocito, un leucocito, una célula neuronal, una célula microglial, una célula cerebral, una célula de la corteza cerebral, una célula de la médula espinal, una célula de la médula ósea, 10 una célula hepática, una célula renal, una célula esplénica, una célula de pulmón, una célula del ojo, una célula de vellosidad coriónica, una célula muscular, una célula cutánea, un fibroblasto, una célula cardíaca, una célula de nódulo linfático o una combinación de estas. En algunas modalidades, la célula es una célula cultivada. En algunas modalidades, la célula cultivada es una célula de BMDM o RPE.

15 **[0105]** En algunas modalidades, el tejido comprende tejido cerebral, tejido de la corteza cerebral, tejido de la médula espinal, tejido hepático, tejido renal, tejido muscular, tejido cardíaco, tejido ocular, tejido retiniano, un nódulo linfático, médula espinal, tejido cutáneo, tejido de vaso sanguíneo, tejido pulmonar, tejido de bazo, tejido valvular o una combinación de estos. En algunas modalidades, la muestra de ensayo y/o referencia se purifica a partir 20 de una célula y/o un tejido y comprende un endosoma, un lisosoma, una vesícula extracelular, un exosoma, una microvesícula o una combinación de estos.

[0106] En algunas modalidades, la o las especies de BMP comprenden dos o más especies de BMP. En algunas modalidades, la o las especies de BMP comprenden BMP(16:0_18:1), BMP(16:0_18:2), BMP(18:0_18:0), BMP(18:0_18:1), BMP(18:1_18:1), 25 BMP(16:0_20:3), BMP(18:1_20:2), BMP(18:0_20:4), BMP(16:0_22:5), BMP(20:4_20:4), BMP(22:6_22:6), BMP(20:4_20:5), BMP(18:2_18:2), BMP(16:0_20:4), BMP(18:0_18:2), BMP(18:0e_22:6), BMP(18:1e_20:4), BMP(18:3_22:5), BMP(20:4_22:6), BMP(18:0e_20:4), BMP(18:2_20:4), BMP(18:1_22:6), BMP(18:1_20:4), BMP(18:0_22:6) o una combinación de estas.

30 **[0107]** En algunas modalidades, la o las especies de BMP comprenden BMP(18:1_18:1), BMP(18:0_20:4), BMP(20:4_20:4), BMP(22:6_22:6), BMP(20:4_22:6), BMP(18:1_22:6), BMP(18:1_20:4), BMP(18:0_22:6), BMP(18:3_22:5) o una combinación de estas.

[0108] En algunas modalidades, la muestra de ensayo comprende una célula cultivada y la o las especies de BMP comprenden BMP(18:1_18:1). En algunas modalidades, la

muestra de ensayo comprende plasma, tejido, orina, líquido cefalorraquídeo (LCR) y/o tejido cerebral o hepático, y la o las especies de BMP comprenden BMP(22:6_22:6). En algunas modalidades, la muestra de ensayo comprende tejido hepático y la o las especies de BMP comprenden BMP(22:6_22:6), BMP(18:3_22:5) o una combinación de estas. En algunas modalidades, la muestra de ensayo comprende LCR u orina y la o las especies de BMP comprenden BMP(22:6_22:6). En algunas modalidades, la muestra de ensayo comprende microglías y la o las especies de BMP comprenden BMP(18:3_22:5).

[0109] En algunas modalidades, la abundancia de la o las especies de BMP se mide con un método que se selecciona del grupo que consiste en cromatografía líquida - espectrometría de masas (LC-MS), cromatografía líquida - espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS), cromatografía de gas - espectrometría de masas (GC-MS), cromatografía de gas - espectrometría de masas en tándem (GC-MS/MS), análisis de inmunoabsorción enzimática (ELISA) y una combinación de estos. En algunas modalidades, se usa un estándar interno de BMP para medir la abundancia de la o las especies de BMP en la etapa (a) y/o determinar el valor de referencia correspondiente. En algunas modalidades, el estándar interno de BMP comprende una especie de BMP que no se encuentra presente naturalmente en el sujeto y/o el sujeto de referencia o población de sujetos de referencia. En algunas modalidades, el estándar interno de BMP comprende BMP(14:0_14:0).

[0110] En algunas modalidades, el trastorno asociado con la progranulina es un trastorno relacionado con la expresión, procesamiento, glicosilación, absorción celular, intercambio y/o función de la progranulina. En algunas modalidades, el sujeto y/o el sujeto de referencia o población de sujetos de referencia tienen un nivel reducido de progranulina y/o un trastorno asociado con un nivel reducido de progranulina, y la muestra de ensayo entró en contacto con un compuesto candidato (por ejemplo, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN descrita en la presente). En algunas modalidades, el sujeto y/o el sujeto de referencia o población de sujetos de referencia tienen uno o más signos o síntomas del trastorno asociado con un nivel reducido de progranulina. En algunas modalidades, el sujeto y/o el sujeto de referencia o población de sujetos de referencia tienen una mutación en un gen de granulina (*GRN*). En algunas modalidades, la mutación en el gen *GRN* reduce la expresión y/o actividad de la progranulina. En algunas modalidades, el trastorno asociado con la progranulina es aterosclerosis, enfermedad de Gaucher o degeneración macular asociada con la edad (AMD). En algunas modalidades, el trastorno asociado con la progranulina es la enfermedad de Gaucher de tipo 1. En algunas modalidades, el trastorno

asociado con la progranulina es un trastorno asociado con TDP-43. En otras modalidades, el trastorno asociado con TDP-43 es AD o ALS.

[0111] En algunas modalidades, el sujeto y/o el sujeto de referencia es un ser humano, un primate no humano, un roedor, un perro o un cerdo.

- 5 **[0112]** En otro aspecto, la presente descripción proporciona un kit para monitorear los niveles de progranulina en un sujeto. En algunas modalidades, el kit comprende un estándar de bis(monoacilglicero)fosfate (BMP) para medir la abundancia de una o más especies de BMP en una muestra de ensayo obtenida del sujeto y/o una muestra de referencia obtenida de un sujeto de referencia o una población de sujetos de referencia. En algunas
- 10 modalidades, el estándar de BMP comprende una especie de BMP que no se encuentra presente naturalmente en el sujeto y/o sujeto de referencia. En algunas modalidades, el estándar de BMP comprende BMP(14:0_14:0).

- [0113]** En algunas modalidades, el kit comprende además reactivos para obtener la muestra del sujeto y/o sujeto de referencia, procesar la muestra, medir la abundancia de la
- 15 o las especies de BMP o una combinación de estos. En algunas modalidades, el kit comprende además instrucciones de uso.

- [0114]** En otro aspecto, la presente descripción proporciona un animal transgénico no humano que comprende (a) un ácido nucleico que codifica un polipéptido de TfR quimérico que comprende: (i) un dominio apical con una identidad de al menos 90 % con respecto a
- 20 la SEQ ID NO:296 y (ii) el sitio de unión a transferrina del polipéptido de TfR natural del animal, y (b) una inactivación del gen *GRN*, y donde el polipéptido de TfR quimérico se expresa en el cerebro del animal.

- [0115]** En algunas modalidades, el dominio apical comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:296. En algunas modalidades, el dominio apical comprende
- 25 la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:297, SEQ ID NO:298 o SEQ ID NO:299.

[0116] En algunas modalidades, el polipéptido de TfR quimérico comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos 95 % con respecto a la SEQ ID NO:300.

- [0117]** En algunas modalidades, el animal expresa un nivel del polipéptido de TfR quimérico en el cerebro, hígado, riñón o tejido pulmonar dentro del 20 % (por ejemplo, 18 %,
- 30 16 %, 14 %, 12 %, 10 %, 8 %, 6 % o 4 %) del nivel de expresión de TfR en el mismo tejido de un animal de tipo salvaje correspondiente de la misma especie.

[0118] En algunas modalidades, el animal comprende un conteo de glóbulos rojos, nivel de hemoglobina o nivel de hematocritos dentro del 20 % (por ejemplo, 18 %, 16 %, 14 %, 12 %, 10 %, 8 %, 6 % o 4 %) del nivel de expresión de TfR en el mismo tejido de un animal de tipo salvaje correspondiente de la misma especie.

12 %, 10 %, 8 %, 6 % o 4 %) del conteo de glóbulos rojos, nivel de hemoglobina o nivel de hematocritos de un animal de tipo salvaje correspondiente de la misma especie.

[0119] En algunas modalidades, la secuencia de ácido nucleico que codifica el dominio apical comprende una secuencia de ácido nucleico que tiene una identidad de al menos 5 95 % (por ejemplo, 97 %, 98 % o 99 %) con respecto a la SEQ ID NO:301.

[0120] En algunas modalidades, el animal es homocigoto o heterocigoto para el ácido nucleico que codifica el polipéptido de TfR quimérico.

[0121] En algunas modalidades, la inactivación del gen *GRN* comprende una delección de los exones 1-4 del gen *GRN*.

10 **[0122]** En algunas modalidades, el animal es un ratón o una rata.

[0123] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína que comprende: (a) un dímero de polipéptidos Fc modificado que se une específicamente a TfR; y (b) un polipéptido de progranulina. En algunas modalidades, la proteína comprende además: (c) un enlazador polipeptídico, donde el enlazador polipeptídico tiene el dímero de 15 polipéptidos Fc modificado al polipéptido de progranulina.

[0124] En algunas modalidades, el dímero de polipéptidos Fc modificado se une específicamente al dominio apical del TfR.

[0125] En algunas modalidades, el dímero de polipéptidos Fc modificado comprende al menos dos sustituciones en las posiciones seleccionadas del grupo que consiste en 384, 20 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 y 421, de acuerdo con la numeración EU, de un polipéptido Fc. En algunas modalidades, el dímero de polipéptidos Fc modificado comprende sustituciones de al menos tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o nueve de las posiciones de un polipéptido Fc. En algunas modalidades, el dímero de polipéptidos Fc modificado comprende además una, dos, tres o cuatro sustituciones en las posiciones que 25 comprenden 380, 391, 392 y 415, de acuerdo con la numeración EU, de un polipéptido Fc. En algunas modalidades, el dímero de polipéptidos Fc modificado comprende además una, dos, tres o cuatro sustituciones en las posiciones que comprenden 414, 424 y 426, de acuerdo con la numeración EU, de un polipéptido Fc.

[0126] En determinadas modalidades, el dímero de polipéptidos Fc modificado 30 comprende un Trp en la posición 388 de un polipéptido Fc. En determinadas modalidades, el dímero de polipéptidos Fc modificado comprende al menos una posición que se selecciona de las siguientes: la posición 380 es Trp, Leu o Glu; la posición 384 es Tyr o Phe; la posición 386 es Thr; la posición 387 es Glu; la posición 388 es Trp; la posición 389 es Ser, Ala, Val o Asn; la posición 390 es Ser o Asn; la posición 413 es Thr o Ser; la posición

415 es Glu o Ser; la posición 416 es Glu; y la posición 421 es Phe de un polipéptido Fc.

[0127] En algunas modalidades, el dímero de polipéptidos Fc modificado comprende 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11 posiciones seleccionadas de las siguientes: la posición 380 es Trp, Leu o Glu; la posición 384 es Tyr o Phe; la posición 386 es Thr; la posición 387 es Glu; la posición 388 es Trp; la posición 389 es Ser, Ala, Val o Asn; la posición 390 es Ser o Asn; la posición 413 es Thr o Ser; la posición 415 es Glu o Ser; la posición 416 es Glu; y la posición 421 es Phe de un polipéptido Fc.

[0128] En algunas modalidades, el dímero de polipéptidos Fc modificado comprende un primer dominio CH3 de polipéptido Fc con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a los aminoácidos 111-217 de cualquiera de las SEQ ID NO:34-38, 58, 60-90, 136 y 137-210. En determinadas modalidades, el dímero de polipéptidos Fc modificado comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:136-210. En determinadas modalidades, el dímero de polipéptidos Fc modificado comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:136, 138, 150, 162, 174, 186 y 198.

[0129] En algunas modalidades, el dímero de polipéptidos Fc modificado comprende un polipéptido Fc que tiene una identidad de la secuencia de aminoácidos de al menos 75 %, o al menos 80 %, 85 %, 90 %, 92 % o 95 %, en comparación con el polipéptido Fc de tipo salvaje correspondiente.

[0130] En algunas modalidades, el dímero de polipéptidos Fc modificado no incluye una secuencia de región variable de cadena ligera y/o pesada de inmunoglobulina, ni una parte de unión al antígeno de esta.

[0131] En algunas modalidades, el extremo C de un polipéptido Fc del dímero de polipéptidos Fc modificado está unido al extremo N del polipéptido de progranulina. En algunas modalidades, el enlazador polipeptídico une el extremo C del polipéptido Fc en el dímero de polipéptidos Fc modificado al extremo N del polipéptido de progranulina.

[0132] En algunas modalidades, el extremo C del polipéptido de progranulina está unido al extremo N de un polipéptido Fc en el dímero de polipéptidos Fc modificado. En algunas modalidades, el enlazador polipeptídico une el extremo C del polipéptido de progranulina al extremo N del polipéptido Fc en el dímero de polipéptidos Fc modificado.

[0133] En algunas modalidades, puede utilizarse en la terapia cualquiera de las proteínas descritas en la presente.

[0134] En algunas modalidades, cualquiera de las proteínas descritas en la presente puede utilizarse para el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa.

[0135] En algunas modalidades, cualquiera de las proteínas descritas en la presente puede utilizarse para el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa que se selecciona del grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, tauopatía primaria asociada con la edad, demencia de cuerpos de Lewy, parálisis supranuclear progresiva (PSP), demencia frontotemporal, demencia frontotemporal con Parkinson vinculada al cromosoma 17, demencia con granos argirófilos, esclerosis lateral amiotrófica, esclerosis lateral amiotrófica/complejo de parkinsonismo-demencia de Guam (ALS-PDC), degeneración corticobasal, encefalopatía traumática crónica, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, demencia pugilística, ovillos neurofibrilares difusos con calcificación, síndrome de Down, demencia familiar británica, demencia familiar danesa, enfermedad de Gerstmann-Straussler-Scheinker, tauopatía glial globular, parkinsonismo guadalupiano con demencia, PSP guadalupiano, enfermedad de Hallevorden-Spatz, leucoencefalopatía difusa hereditaria con esferoides (HDLS), miositis por cuerpos de inclusión, atrofia multisistémica, distrofia miotónica, enfermedad de Nasu-Hakola, demencia con predominio de ovillos neurofibrilares, enfermedad de Niemann-Pick de tipo C, degeneración palido-ponto-nigral, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Pick, parkinsonismo posencefálico, angiopatía amiloide cerebral causada por proteínas priónicas, gliosis subcortical progresiva, panencefalitis esclerosante subaguda y demencia solo con ovillos.

[0136] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína para utilizar en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, donde (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:213 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:273.

[0137] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína para utilizar en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, donde (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:214 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:273.

[0138] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína para utilizar en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer

polipéptido Fc, donde (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:225 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:273.

[0139] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína para utilizar en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico, donde el segundo polipéptido Fc forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, y donde (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:213 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:274.

[0140] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína para utilizar en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico, donde el segundo polipéptido Fc forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, y donde (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:213 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:275.

[0141] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína para utilizar en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico, donde el segundo polipéptido Fc forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, y donde (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:225 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:275.

[0142] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína para utilizar en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, donde (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:213 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:261.

[0143] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína para utilizar en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, donde (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:225 y (b) comprende

la secuencia de la SEQ ID NO:261.

[0144] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína para utilizar en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, donde (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:215 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:110.

[0145] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína para utilizar en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, donde (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:227 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:110.

[0146] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína para utilizar en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, donde (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:215 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:273.

[0147] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína para utilizar en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, donde (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:227 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:273.

[0148] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína para utilizar en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, donde (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:215 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:282.

[0149] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína para utilizar en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador

polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, donde (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:227 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:282.

[0150] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína para utilizar en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, donde (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:215 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:284.

[0151] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína para utilizar en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, donde (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:227 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:284.

[0152] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína para utilizar en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, donde (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:215 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:285.

[0153] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína para utilizar en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, donde (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:227 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:285.

[0154] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína para utilizar en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, donde (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:215 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:210.

[0155] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína para utilizar en

el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, donde (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:227 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:210.

[0156] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína para utilizar en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, donde (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:215 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:291.

[0157] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una proteína para utilizar en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende (a) un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina a través de un enlazador polipeptídico; y (b) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc, donde (a) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:227 y (b) comprende la secuencia de la SEQ ID NO:291.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0158] La FIG. 1A muestra una ilustración esquemática de tres proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN, Fusión 1, Fusión 2 y Fusión 3. En Fusión 1 y Fusión 2, el extremo N de PGRN se fusiona al extremo C del polipéptido Fc que no contiene mutaciones de unión a TfR (indicadas mediante una estrella) a través de un enlazador $(G_4S)_2$ (SEQ ID NO:276) y un enlazador G_4S (SEQ ID NO:277), respectivamente. En Fusión 3, el extremo C de PGRN se fusiona al extremo N del polipéptido Fc que no contiene mutaciones de unión a TfR (indicadas mediante una estrella) a través de un enlazador $(G_4S)_2$.

[0159] La FIG. 1B muestra geles de SDS-PAGE que demuestran que las proteínas de fusión Fusión 1, Fusión 2 y Fusión 3, donde cada una contiene una molécula de PGRN, se purificaron hasta obtener una pureza mayor que 85 %.

[0160] La FIG. 1C es una ilustración esquemática que muestra las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 4, Fusión 5 y Fusión 6. En Fusión 4, cada una de las dos moléculas de PGRN se fusiona al extremo C de un polipéptido Fc a través del enlazador $(G_4S)_2$ (SEQ ID NO:276). Una molécula de PGRN se fusiona al extremo C del polipéptido

Fc que contiene mutaciones de unión a TfR (indicadas mediante una estrella), mientras que la otra molécula de PGRN se fusiona al extremo C del polipéptido Fc sin las mutaciones de unión a TfR. En Fusión 5, una molécula de PGRN se fusiona al extremo N del polipéptido Fc que contiene mutaciones de unión a TfR (indicadas mediante una estrella) a través del
 5 enlazador (G₄S)₂, mientras que la otra molécula de PGRN se fusiona al extremo C del otro polipéptido Fc sin las mutaciones de unión a TfR. En Fusión 6, cada una de las dos moléculas de PGRN se fusiona al extremo N de un polipéptido Fc a través del enlazador (G₄S)₂. Una molécula de PGRN se fusiona al extremo N del polipéptido Fc que contiene mutaciones de unión a TfR (indicadas mediante una estrella), mientras que la otra molécula
 10 de PGRN se fusiona al extremo N del polipéptido Fc sin las mutaciones de unión a TfR.

[0161] La FIG. 1D muestra que las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 4 y Fusión 5, donde cada una contiene dos moléculas de PGRN, se purificaron hasta obtener una pureza mayor que 85 %.

[0162] La FIG. 1E es una ilustración esquemática que muestra las proteínas de fusión de
 15 dímero de Fc:PGRN Fusión 7 y Fusión 8. Ambas proteínas de fusión Fusión 7 y Fusión 8 contienen polipéptidos Fc que no contienen mutaciones de unión a TfR. En Fusión 7, el extremo N de PGRN se fusiona al extremo C de un polipéptido Fc a través de enlazador (G₄S)₂ (SEQ ID NO:276). En Fusión 8, el extremo C de PGRN se fusiona al extremo N de un polipéptido Fc a través de enlazador (G₄S)₂.

[0163] Las FIGS. 2A y 2B muestran la absorción celular eficaz de PGRN recombinante y las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN (Fusión 1, Fusión 2 y Fusión 3) tal como se indica mediante la tinción de PGRN (FIG. 2A) y Fc (FIG. 2B).

[0164] La FIG. 3 muestra que las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN (Fusión 1, Fusión 2 y Fusión 3) fueron capaces de rescatar los déficits proteolíticos de BMDM con
 25 *GRN* KO.

[0165] La FIG. 4 muestra la respuesta a la dosis de las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN (Fusión 1, Fusión 3, Fusión 4 y Fusión 5) en un ensayo de proteólisis endo-
 lisosomal mediante el uso de un conjugado Bodipy-BSA (DQ-BSA).

[0166] La FIG. 5 muestra que las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN (Fusión 1, Fusión 2 y Fusión 3) fueron capaces de rescatar una actividad de cathepsina D elevada
 30 observada en los BMDM con *GRN* KO.

[0167] Las FIGS. 6A-6D muestra que la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 1 pudo rescatar niveles elevados de ARNm de los genes lisosomales *Ctsl*, *Tmem106b* y *Psap* en los BMDM con *GRN* KO.

[0168] Las FIGS. 7A y 7B muestran que las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 1 y Fusión 3 presentaron perfiles farmacocinéticos similares en muestras de plasma e hígado de ratones WT a los que se les administraron estas proteínas de fusión.

[0169] Las FIGS. 8A y 8B muestran gráficas de dispersión con media y SEM indicadas para concentraciones de las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 1 y Fusión 3 en nM que se midieron en lisados cerebrales y lisados hepáticos, respectivamente, de ratones WT y hTfR 4 horas después de la dosificación. Los datos se generaron mediante el uso de un anticuerpo de detección de progranulina humana policlonal de cabra biotinilado (R&D Systems #BAF2420).

[0170] La FIG. 9A muestra una gráfica de dispersión con media y SEM indicadas para relaciones de cerebro:plasma de las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 1 y Fusión 3 normalizadas a Fusión 3 en WT.

[0171] La FIG. 9B muestra una gráfica de dispersión con media y SEM indicadas para relaciones de hígado:plasma de las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 1 y Fusión 3 normalizadas a Fusión 3 en WT.

[0172] Las FIGS. 10A y 10B muestran una gráfica de dispersión con media y SEM indicadas para concentraciones de las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 1 y Fusión 3 en nM que se midieron en lisados cerebrales y lisados hepáticos, respectivamente, de ratones WT y hTfR 4 horas después de la dosificación. Los datos se generaron mediante el uso de un anticuerpo de detección dirigido a un sitio en Fc.

[0173] Las FIGS. 11A y 11B muestran una gráfica de dispersión con media y SEM indicadas para concentraciones de las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 1 y Fusión 3 en ng/mg de proteína total que se midieron en lisados cerebrales y lisados hepáticos, respectivamente, de ratones WT y hTfR 4 horas después de la dosificación. Los datos se generaron mediante el uso de un anticuerpo de detección dirigido a un sitio en Fc.

[0174] Las FIGS. 12A y 12B muestran gráficas semilogarítmicas del transcurso del tiempo de las concentraciones de plasma promedio en nM de las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 1 y Fusión 3, respectivamente, en ratones hTfR y WT.

[0175] Las FIGS. 12C y 12D muestran gráficas de dispersión con media y SEM indicadas para concentraciones en plasma en nM de las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 1 y Fusión 3 a 0,25 hr y 4 hr después de la dosificación, respectivamente.

[0176] Las FIGS. 13A y 13B muestran niveles mayores de especies de bis(monoacilglicerol)fosfato (BMP) en macrófagos derivados de médula ósea (BMDM) de ratones con inactivación de *GRN* en comparación con tipo salvaje. La FIG. 13A muestra

que el tratamiento de los BMDM de ratones con inactivación de *GRN* con las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 11 y Fusión 12 que se muestran en la Tabla 1 del Ejemplo 1 redujeron los niveles elevados de BMP(18:1_18:1). La FIG. 13B muestra que el tratamiento de los BMDM de ratones con inactivación de *GRN* con las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 11 y Fusión 12 redujeron los niveles elevados de BMP(20:4_20:4).

[0177] Las FIGS. 13C y 13D muestran que el tratamiento de BMDM de ratones con inactivación de *GRN* con progranulina recombinante (Adipogen) o progranulina expresada mediante lentivirus redujo los niveles elevados de BMP (BMP total, así como 18:1_18:1).

[0178] La FIG. 14A muestra una disminución de BMP 44:12 en la periferia de hígado, plasma y orina de ratones con inactivación de *GRN* en comparación con los de tipo salvaje.

[0179] La FIG. 14B muestra una disminución de BMP 44:12 en el líquido cefalorraquídeo (LCR) y cerebro del sistema nervioso central (SNC) en comparación con los de tipo salvaje.

[0180] La FIG. 15 muestra que los ratones con inactivación de *GRN* de 2 a 19 meses de vida presentaron una reducción independiente de la edad de BMP 44:12 en plasma en comparación con los de tipo salvaje.

[0181] Las FIGS. 16A y 16B muestran que el tratamiento de ratones con inactivación de *GRN* con las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 11 y Fusión 12 aumentaron los niveles de BMP 44:12 y 20:4_20:4 en el hígado.

[0182] La FIG. 17 muestra que el tratamiento de ratones con inactivación de *GRN* con las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 11 y Fusión 12 aumentaron los niveles de BMP 44:12 en plasma.

[0183] La FIG. 18 muestra que el tratamiento de ratones con inactivación de *GRN* con las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 11 y Fusión 12 aumentaron los niveles de BMP 44:12 en la orina (normalizados a creatina).

[0184] La FIG. 19 muestra que el tratamiento de ratones con inactivación de *GRN* con las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 11 y Fusión 12 aumentaron los niveles de BMP 44:12 en el LCR.

[0185] Las FIGS. 20A y 20B muestran que el tratamiento de ratones con inactivación de *GRN* con las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 11 y Fusión 12 aumentaron los niveles de BMP 44:12 y 20:4_20:4 en el cerebro, respectivamente.

[0186] Las FIGS. 21A-21C muestran que Fusión 11 y Fusión 12 pudieron cruzar la BBB en el cerebro de los ratones *GRN* KO/hTfR.KI.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

I. INTRODUCCIÓN

5 **[0187]** Se desarrollaron proteínas de fusión que incluyen un polipéptido de progranulina o una variante de este unido a un polipéptido de Fc. Estas proteínas pueden utilizarse para tratar trastornos asociados con la progranulina (por ejemplo, una enfermedad neurodegenerativa, tal como demencia frontotemporal (FTD)). En algunos casos, la proteína incluye un polipéptido Fc dimérico, donde uno de los monómeros del polipéptido

10 Fc está unido al polipéptido de progranulina. Los polipéptidos Fc pueden aumentar los niveles de progranulina y, en algunos casos, pueden modificarse de manera que confieran propiedades funcionales adicionales a la proteína.

[0188] La progranulina (PGRN) (también conocida como proepitelina y acrogranina) es una proteína con alto contenido de cisteína codificada por el gen *GRN*, que se mapea al

15 cromosoma humano 17q21. La progranulina es una proteína lisosomal y una proteína secretada que consiste en siete repeticiones en tándem y media de péptidos de granulina conservados, cada uno de los cuales tiene una longitud de alrededor de 60 aminoácidos y puede liberarse mediante escisión a través de diversas proteasas (por ejemplo, elastasa) y proteasas lisosomales (por ejemplo, catepsina L) (Kao et ál., *Nat Rev Neurosci.* 18(6):325-

20 333, 2017). Generalmente, se considera que la progranulina desempeña papeles tanto autónomos como no autónomos en la célula en el control de la inmunidad innata, así como la función de los lisosomas, donde regula la actividad y los niveles de diversas catepsinas y otras hidrolasas (Kao et ál., *supra*). La progranulina también tiene una función neurotrófica y promueve el sobrecrecimiento de neuritas, así como la supervivencia neuronal (Kao et

25 ál., *supra*).

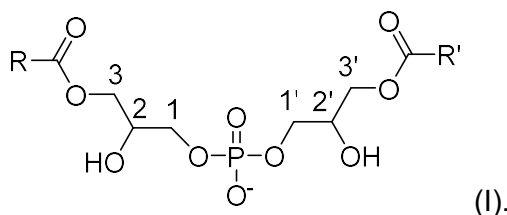
[0189] También se describen en la presente proteínas de fusión que facilitan la administración de un polipéptido de progranulina a través de la barrera hematoencefálica (BBB, por sus siglas en inglés). Estas proteínas comprenden un polipéptido Fc y un polipéptido Fc modificado que forman un dímero, y un polipéptido de progranulina unido a

30 la región Fc y/o la región Fc modificada. La región Fc modificada puede unirse específicamente a un receptor de la BBB, tal como un receptor de transferrina (TfR).

II. DEFINICIONES

[0190] Como se usan en la presente, las formas singulares “un”, “uno” y “el” incluyen los referentes plurales, a menos que el contenido indique claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, una referencia a «un polipéptido» puede incluir dos o más de dichas moléculas, y similares.

- 5 **[0191]** Tal como se utilizan en la presente, los términos “alrededor de” y “aproximadamente”, cuando se utilizan para modificar una cantidad especificada en un valor o intervalo numérico, indican que el valor numérico, así como también desviaciones razonables del valor conocido por el experto en la técnica, por ejemplo, $\pm 20\%$, $\pm 10\%$ o $\pm 5\%$, se encuentran dentro del significado previsto del valor establecido.
- 10 **[0192]** Tal como se usa en la presente, el término “BMP” hace referencia a bis(monoacilglicero)fosfato. El BMP es un glicerofosfolípido con carga negativa (por ejemplo, al pH presente normalmente dentro de endosomas y lisosomas tardíos) que tiene la estructura que se representa en la Fórmula I:



- 15 Las moléculas de BMP comprenden dos cadenas laterales de ácido graso. R y R' en la Fórmula I representan cadenas alifáticas saturadas o insaturadas seleccionadas de manera independiente, cada una de las cuales contiene típicamente 14, 16, 18, 20 o 22 átomos de carbono. Cuando una cadena lateral de ácido graso es insaturada, puede contener 1, 2, 3, 4, 5, 6 o más enlaces dobles carbono-carbono. Además, una molécula de BMP puede
- 20 contener uno o dos sustituyentes de éter de alquilo, donde el oxígeno de carbonilo de una o ambas cadenas laterales de ácido graso se reemplaza con dos átomos de hidrógeno. La nomenclatura que se usa en la presente para describir una especie particular de BMP hace referencia a una especie que tiene dos cadenas laterales de ácido graso, donde las estructuras de las cadenas laterales de ácido graso se indican dentro de paréntesis en el
- 25 formato de BMP (por ejemplo, BMP(18:1_18:1)). Los números siguen el formato estándar de notación de ácidos grasos de la cantidad de “átomos de carbono de ácido graso:cantidad de enlaces dobles”. Se usa un prefijo “e-” para indicar la presencia de un sustituyente de éter de alquilo, donde el oxígeno de carbonilo de la cadena lateral de ácido graso se reemplaza con dos átomos de hidrógeno. Por ejemplo, la “e” de “BMP(16:0e_18:0)” denota
- 30 que la cadena lateral que tiene 16 átomos de carbono es un sustituyente de éter de alquilo.
- [0193]** Un “polipéptido de progranulina” o “polipéptido de PGRN” hace referencia a una

proteína lisosomal con alto contenido de cisteína codificada por el gen *GRN*. Un polipéptido de progranulina puede comprender una secuencia de progranulina humana, por ejemplo, la secuencia de la SEQ ID NO:211 o 212. Un polipéptido de progranulina puede ser una progranulina premadura con la secuencia de la SEQ ID NO:211, donde los primeros 17 aminoácidos indican el péptido señal. Un polipéptido de progranulina puede ser una progranulina madura en la cual se escinde el péptido señal de 17 aminoácidos. Una progranulina madura puede comprender la secuencia de la SEQ ID NO:212. Un polipéptido de progranulina puede incluir una secuencia de una especie no humana, por ejemplo, ratón (n.º de acceso NP_032201.2), rata (NP_058809.2 o NP_001139314.1) y chimpancé (XP_016787144.1 o XP_016787145.1) ya sea en forma premadura o madura.

[0194] Una “variante de polipéptido de progranulina” o “variante de polipéptido de PGRN” hace referencia a una variante funcional de una progranulina de tipo salvaje que tiene una identidad de secuencia de al menos 90 % (por ejemplo, identidad de secuencia de 92 %, 94 %, 96 %, 98 % o 99 %) con respecto a un polipéptido de progranulina de tipo salvaje maduro (por ejemplo, SEQ ID NO:212). Una variante de polipéptido de progranulina puede tener funciones similares a las de una progranulina de tipo salvaje, por ejemplo, donde la variante de polipéptido de progranulina también se une a sortilina o prosaposina, regula la actividad y los niveles de diversas proteínas lisosomales (por ejemplo, catepsinas), promueve el sobrecrecimiento de neuritas y supervivencia neuronal, y/o cualquier otra función descrita en la presente. La variante de polipéptido de progranulina comprende las granulinas G, F, B, A, C, D y E de una progranulina de longitud completa (por ejemplo, SEQ ID NO:212).

[0195] La expresión “trastorno asociado con la progranulina” hace referencia a cualquier afección patológica relacionada con la progranulina que incluye la expresión, procesamiento, glicosilación, absorción celular, intercambio y/o función. La expresión “trastorno asociado con un nivel reducido de progranulina” hace referencia a cualquier afección patológica que sea resultado directo o indirecto de un nivel de progranulina que es insuficiente para permitir (es decir, es demasiado bajo como para permitir) la función fisiológica normal dentro de una célula, un tejido y/o un sujeto, así como los precursores de este tipo de afección. En algunas modalidades, el trastorno asociado con la progranulina es una enfermedad neurodegenerativa (por ejemplo, demencia frontotemporal (FTD)) o un trastorno de depósito lisosomal.

[0196] La expresión “nivel de progranulina” hace referencia a la cantidad, concentración y/o nivel de actividad de progranulina que está presente, ya sea en un sujeto o en una

muestra (por ejemplo, una muestra obtenida de un sujeto). Un nivel de progranulina puede hacer referencia a una cantidad, concentración y/o nivel de actividad absolutos de progranulina que se encuentra presente, o puede hacer referencia a una cantidad, concentración y/o nivel de actividad relativos. La expresión también hace referencia a la cantidad o concentración de un polipéptido de progranulina y/o ARNm de progranulina (por ejemplo, expresado de un gen *GRN*) que se encuentra presente.

[0197] La expresión “macrófago derivado de la médula ósea” o “BMDM” hace referencia a una célula de macrófago que se genera o deriva *in vitro* de una médula ósea de mamífero (por ejemplo, una médula ósea obtenida de un sujeto). A modo de ejemplo no taxativo, los BMDM pueden generarse mediante cultivo de células de médula ósea no diferenciadas en presencia de una citocina tal como factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF).

[0198] Como se utiliza en el contexto de la presente descripción, un “receptor de transferrina” o “TfR” hace referencia a una proteína del receptor de transferrina 1. La secuencia de polipéptidos del receptor de transferrina humana 1 se establece en la SEQ ID NO:92. También se conocen las secuencias de la proteína del receptor de transferrina 1 de otras especies (por ejemplo, chimpancé, número de acceso XP_003310238.1; mono rhesus, NP_001244232.1; perro, NP_001003111.1; ganado, NP_001193506.1; ratón, NP_035768.1; rata, NP_073203.1; y pollo, NP_990587.1). La expresión “receptor de transferrina” también comprende variantes alélicas de los ejemplos de las secuencias de referencia, por ejemplo, secuencias humanas, que se codifican mediante un gen en un locus cromosómico de la proteína del receptor de transferrina 1. La proteína del receptor de transferrina de longitud completa incluye una región intracelular de extremo N corta, una región transmembrana y un dominio extracelular grande. El dominio extracelular se caracteriza por tres dominios: un dominio similar a la proteasa, un dominio helicoidal y un dominio apical.

[0199] Tal como se utiliza en la presente, la expresión “polipéptido Fc” hace referencia a la región del extremo C de un polipéptido de cadena pesada de inmunoglobulina de origen natural que se caracteriza por un pliegue de Ig como dominio estructural. Un polipéptido Fc contiene secuencias de región constante que incluyen al menos el dominio CH2 y/o el dominio CH3 y pueden contener al menos parte de la región bisagra. En general, un polipéptido Fc no contiene una región variable.

[0200] Un “polipéptido Fc modificado” hace referencia a un polipéptido Fc que tiene al menos una mutación, por ejemplo, una sustitución, delección o inserción, en comparación con una secuencia de un polipéptido Fc de cadena pesada de inmunoglobulina de tipo

salvaje, pero que conserva el pliegue de Ig o la estructura general del polipéptido Fc natural.

[0201] Tal como se usa en la presente, la expresión “dímero de polipéptidos Fc” hace referencia a un dímero de dos polipéptidos Fc. En algunas modalidades, los dos polipéptidos Fc se dimerizan mediante la interacción entre los dos dominios CH3. Si las regiones bisagra o partes de las regiones bisagra están presentes en los dos polipéptidos Fc, pueden formarse uno o más enlaces disulfuro entre las regiones bisagra de los dos polipéptidos Fc dimerizantes.

[0202] Un “dímero de polipéptidos Fc modificado” hace referencia a un dímero de dos polipéptidos Fc en el cual al menos un polipéptido Fc es un polipéptido Fc modificado que tiene al menos una mutación, por ejemplo, una sustitución, delección o inserción, en comparación con una secuencia de polipéptido Fc de cadena pesada de inmunoglobulina de tipo salvaje. Por ejemplo, un dímero de polipéptidos Fc modificado se une específicamente a TfR y tiene al menos un polipéptido Fc modificado que tiene al menos una mutación, por ejemplo, una sustitución, delección o inserción, en comparación con una secuencia de polipéptido Fc de cadena pesada de inmunoglobulina de tipo salvaje.

[0203] El término “FcRn” hace referencia al receptor Fc neonatal. La unión de polipéptidos Fc a FcRn reduce la depuración y aumenta la semivida en suero del polipéptido Fc. La proteína FcRn humana es un heterodímero que está compuesto por una proteína con un tamaño de alrededor de 50 kDa que es similar a una proteína de clase I del complejo principal de histocompatibilidad (MHC, por sus siglas en inglés) y una microglobulina $\beta 2$ con un tamaño de alrededor de 15 kDa.

[0204] Tal como se utiliza en la presente, un “sitio de unión a FcRn” hace referencia a la región de un polipéptido Fc que se une a FcRn. En la IgG humana, el sitio de unión a FcRn, según se numera mediante el uso del índice EU, incluye T250, L251, M252, I253, S254, R255, T256, T307, E380, M428, H433, N434, H435 e Y436. Estas posiciones corresponden a las posiciones 20 a 26, 77, 150, 198 y 203 a 206 de la SEQ ID NO:1.

[0205] Tal como se utiliza en la presente, un “sitio de unión a FcRn natural” hace referencia a una región de un polipéptido Fc que se une a FcRn y que tiene la misma secuencia de aminoácidos que la región de un polipéptido Fc de origen natural que se une a FcRn.

[0206] Tal como se usan en la presente, las expresiones “dominio CH3” y “dominio CH2” hacen referencia a polipéptidos del dominio de la región constante de inmunoglobulina. Para los fines de la presente solicitud, un polipéptido del dominio CH3 hace referencia a un segmento de aminoácidos de alrededor de la posición 341 a alrededor de la posición 447

según se numera de acuerdo con el esquema de numeración EU y un polipéptido del dominio CH2 hace referencia al segmento de aminoácidos de alrededor de la posición 231 a alrededor de la posición 340 según se numera de acuerdo con el esquema de numeración EU y no incluye secuencias de la región bisagra. Los polipéptidos del dominio CH2 y CH3 también pueden numerarse mediante el esquema de numeración IMGT (ImMunoGeneTics) en el que la numeración del dominio CH2 es 1-110 y la numeración del dominio CH3 es 1-107, de acuerdo con numeración de la IMGT Scientific (sitio web de IMGT). Los dominios CH2 y CH3 son parte de la región Fc de una inmunoglobulina. Una región de Fc hace referencia al segmento de aminoácidos de alrededor de la posición 231 a alrededor de la posición 447 según se numera de acuerdo con el esquema de numeración EU, pero como se utiliza en la presente, puede incluir al menos una parte de una región bisagra de un anticuerpo. Una secuencia de región bisagra ilustrativa es la secuencia bisagra de IgG1 humana EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:91).

[0207] Los términos “de tipo salvaje”, “natural” y “de origen natural”, con respecto a un dominio CH3 o CH2, se utilizan en la presente para hacer referencia a un dominio que tiene una secuencia que se produce de forma natural.

[0208] En el contexto de la presente descripción, el término “mutante”, con respecto a un polipéptido mutante o a un polinucleótido mutante, se utiliza de forma intercambiable con “variante”. Una variante con respecto a una secuencia de referencia del dominio CH3 o CH2 de tipo salvaje puede incluir variantes alélicas de origen natural. Un dominio CH3 o CH2 de origen “artificial” hace referencia a un dominio variante o mutante que no se encuentra presente en una célula de forma natural y que se produce mediante modificación genética, por ejemplo, mediante el uso de tecnología de manipulación genética o técnicas de mutagénesis, de un polinucleótido o polipéptido de dominio CH3 o de dominio CH2 natural. Una “variante” incluye todo dominio que comprenda al menos una mutación de aminoácidos con respecto al tipo salvaje. Las mutaciones pueden incluir sustituciones, inserciones y deleciones.

[0209] El término “aminoácido” hace referencia a aminoácidos sintéticos y de origen natural, así como a análogos de aminoácidos y miméticos de aminoácidos que funcionan de manera similar a los aminoácidos de origen natural.

[0210] Los aminoácidos de origen natural son aquellos codificados por el código genético, así como también los aminoácidos que se modifican posteriormente, por ejemplo, hidroxiprolina, γ -carboxiglutamato y O-fosfoserina. “Análogos de aminoácidos” hace referencia a compuestos que tienen la misma estructura química básica que un aminoácido

de origen natural, es decir, un carbono α que está unido a un hidrógeno, un grupo carboxilo, un grupo amino y un grupo R, por ejemplo, homoserina, norleucina, sulfóxido de metionina, sulfonio metílico de metionina. Dichos análogos tienen grupos R modificados (por ejemplo, norleucina) o estructuras principales peptídicas modificadas, pero conservan la misma estructura química básica que un aminoácido de origen natural. “Miméticos de aminoácidos” hace referencia a compuestos químicos que tienen una estructura que es distinta de la estructura química general de un aminoácido, pero que funcionan de una forma similar a un aminoácido de origen natural.

[0211] Los aminoácidos α de origen natural incluyen, de modo no taxativo, alanina (Ala), cisteína (Cys), ácido aspártico (Asp), ácido glutámico (Glu), fenilalanina (Phe), glicina (Gly), histidina (His), isoleucina (Ile), arginina (Arg), lisina (Lys), leucina (Leu), metionina (Met), asparagina (Asn), prolina (Pro), glutamina (Gln), serina (Ser), treonina (Thr), valina (Val), triptófano (Trp), tirosina (Tyr) y combinaciones de estos. Los estereoisómeros de los aminoácidos α de origen natural incluyen, de modo no taxativo, D-alanina (D-Ala), D-cisteína (D-Cys), ácido D-aspártico (D-Asp), ácido D-glutámico (D-Glu), D-fenilalanina (D-Phe), D-histidina (D-His), D-isoleucina (D-Ile), D-arginina (D-Arg), D-lisina (D-Lys), D-leucina (D-Leu), D-metionina (D-Met), D-asparagina (D-Asn), D-prolina (D-Pro), D-glutamina (D-Gln), D-serina (D-Ser), D-treonina (D-Thr), D-valina (D-Val), D-triptofano (D-Trp), D-tirosina (D-Tyr) y combinaciones de estos.

[0212] En la presente puede hacerse referencia a los aminoácidos ya sea mediante los símbolos de tres letras conocidos comúnmente o mediante los símbolos de una letra recomendados por la Comisión de Nomenclatura Bioquímica [*Biochemical Nomenclature Commission*] de IUPAC-IUB.

[0213] Los términos “polipéptido” y “péptido” se utilizan de manera intercambiable en la presente para hacer referencia a un polímero de residuos de aminoácidos en una cadena simple. Los términos se aplican a polímeros de aminoácidos en los cuales uno o más residuos de aminoácidos son un mimético químico artificial de un aminoácido de origen natural correspondiente, así como también a polímeros de aminoácidos de origen natural y polímeros de aminoácidos de origen no natural. Los polímeros de aminoácidos pueden comprender solo aminoácidos L, solo aminoácidos D o una mezcla de aminoácidos L y D.

[0214] Tal como se usa en la presente, el término “proteína” hace referencia a un polipéptido o a un dímero (es decir, dos) o multímero (es decir, tres o más) de polipéptidos de cadena simple. Los polipéptidos de cadena simple de una proteína pueden unirse mediante un enlace covalente, por ejemplo, un enlace disulfuro o interacciones no

covalentes.

[0215] Las expresiones “sustitución conservadora”, “mutación conservadora” o “variante modificada en forma conservadora” hacen referencia a una alteración que tiene como resultado la sustitución de un aminoácido con otro aminoácido que puede decirse que tiene un rasgo similar. Los ejemplos de categorías de los grupos de aminoácidos conservadores definidos de esta manera pueden incluir: un “grupo cargado/polar” que incluyen Glu (ácido glutámico o E), Asp (ácido aspártico o D), Asn (asparagina o N), Gln (Glutamina o Q), Lys (Lisina o K), Arg (Arginina o R) y His (Histidina o H); un “grupo aromático” que incluye Phe (fenilalanina o F), Tyr (tirosina o Y), Trp (triptófano o W) y (histidina o H); y un “grupo alifático” que incluye Gly (glicina o G), Ala (alanina o A), Val (valina o V), Leu (leucina o L), Ile (isoleucina o I), Met (metionina o M), Ser (serina o S), Thr (treonina o T) y Cys (cisteína o C). Dentro de cada grupo, también pueden identificarse subgrupos. Por ejemplo, el grupo de aminoácidos cargados o polares puede subdividirse en subgrupos que incluyen: un “subgrupo cargado positivamente” que comprende Lys, Arg y His; un “subgrupo cargado negativamente” que comprende Gly y Asp; y un “subgrupo polar” que comprende Asn y Gln. En otro ejemplo, el grupo aromático o cíclico puede subdividirse en subgrupos que incluyen: un “subgrupo de anillo de nitrógeno” que comprende Pro, His y Trp; y un “subgrupo fenilo” que comprende Phe y Tyr. En otro ejemplo adicional, el grupo alifático puede subdividirse en subgrupos, por ejemplo, un “subgrupo no polar alifático” que comprende Val, Leu, Gly y Ala; y un “subgrupo ligeramente polar alifático” que comprende Met, Ser, Thr y Cys. Los ejemplos de categorías de mutaciones conservadoras incluyen sustituciones de aminoácidos de los aminoácidos dentro de los subgrupos que anteceden, tales como, de modo no taxativo: Lys por Arg o viceversa, de forma tal que pueda mantenerse una carga positiva; Glu por Asp o viceversa, de forma tal que pueda mantenerse una carga negativa; Ser por Thr o viceversa, de forma tal que pueda mantenerse un -OH libre; y Gln por Asn o viceversa, de forma tal que pueda mantenerse -NH₂ libre. En algunas modalidades, los aminoácidos hidrofóbicos se sustituyen por aminoácidos hidrofóbicos de origen natural, por ejemplo, en el sitio activo, para conservar la hidrofobicidad.

[0216] Las expresiones “idéntico” o “porcentaje de identidad”, en el contexto de dos o más secuencias de polipéptidos, hace referencia a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales o tienen un porcentaje específico de residuos de aminoácidos, por ejemplo, una identidad de al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, o al menos 95 % o mayor, que son idénticos en una región específica, al compararlos y alinearlos para determinar una correspondencia máxima

en una ventana de comparación o región designada, según se mide a través de un algoritmo de comparación de secuencias o mediante alineación manual e inspección visual.

[0217] En el caso de comparación de secuencias de polipéptidos, típicamente, una secuencia de aminoácidos actúa como una secuencia de referencia con la que se compara la secuencia candidata. La alineación puede llevarse a cabo mediante el uso de diversos métodos disponibles para el experto en la técnica, por ejemplo, alineación visual o mediante el uso de un software disponible públicamente mediante el uso de algoritmos conocidos para lograr una alineación máxima. Dichos programas incluyen los programas BLAST, ALIGN, ALIGN-2 (Genentech, South San Francisco, Calif.) o Megalign (DNASTAR). Un experto en la técnica puede determinar los parámetros a emplear para una alineación con el fin de lograr una alineación máxima. Para la comparación de secuencia de las secuencias de polipéptidos a los fines de la presente solicitud, se utiliza el algoritmo de proteínas estándar para BLAST BLASTP para la alineación de dos secuencias de proteínas con los parámetros por defecto.

[0218] Las expresiones “corresponde a”, “determinado con referencia a” o “numerado con referencia a”, cuando se utilizan en el contexto de la identificación de un residuo de aminoácidos dado en una secuencia de polipéptidos, hace referencia a la posición del residuo de una secuencia de referencia específica cuando la secuencia de aminoácidos dada se alinea al máximo y se compara con la secuencia de referencia. Por lo tanto, por ejemplo, un residuo de aminoácidos en un polipéptido Fc modificado “corresponde a” un aminoácido de la SEQ ID NO:1, cuando el residuo se alinea con el aminoácido de la SEQ ID NO:1 cuando se alinea de forma óptima con la SEQ ID NO:1. El polipéptido que se alinea con la secuencia de referencia no necesita tener la misma longitud que la secuencia de referencia.

[0219] Tal como se usa en la presente, la expresión “afinidad de unión” hace referencia a la potencia de la interacción no covalente entre dos moléculas, por ejemplo, un único sitio de unión en un polipéptido y un objetivo, por ejemplo, receptor de transferrina, al cual se une. Por lo tanto, por ejemplo, la expresión puede hacer referencia a interacciones 1:1 entre un polipéptido y su objetivo, a menos que se indique lo contrario o resulte evidente a partir del contexto. La afinidad de unión puede cuantificarse a través de la medición de una constante de disociación (K_D) en equilibrio, que hace referencia a la constante de velocidad de disociación (k_d , tiempo⁻¹) dividida entre la constante de velocidad de asociación (k_a , tiempo⁻¹ M⁻¹). La K_D puede determinarse a través de la medición la cinética de formación de complejos y disociación, por ejemplo, con el uso de métodos de resonancia por plasmones

superficiales (SPR, por sus siglas en inglés), por ejemplo, un sistema Biacore™; ensayos de exclusión cinética tales como KinExA®; e interferometría BioLayer (por ejemplo, con el uso de la plataforma ForteBio® Octet®). Tal como se utiliza en la presente, “afinidad de unión” incluye no solamente las afinidades de unión formales, tales como las que reflejan las interacciones 1:1 entre un polipéptido y su objetivo, sino las afinidades evidentes para las cuales se calculan K_D que pueden reflejar una unión ávida.

[0220] La frase “se une específicamente” o “se une selectivamente” a un objetivo, por ejemplo, el receptor de transferrina, cuando se hace referencia a un polipéptido que comprende un polipéptido Fc modificado que se une al receptor de transferrina, como se describe en la presente, hace referencia a una reacción de unión por medio de la cual el polipéptido se une al objetivo con mayor afinidad, mayor avidéz y/o mayor duración que lo que se une a un objetivo estructuralmente distinto, por ejemplo, un objetivo que no se encuentra en la familia del receptor de transferrina. En modalidades típicas, el polipéptido tiene una afinidad al menos 5 veces, 10 veces, 25 veces, 50 veces, 100 veces, 1000 veces, 10 000 veces o mayor para un receptor de transferrina, en comparación con un objetivo no relacionado cuando se evalúa en las mismas condiciones del ensayo de afinidad. Como se utilizan en la presente, las expresiones “unión específica”, “se une específicamente” o “es específico para” un objetivo particular (por ejemplo, TfR) pueden presentarse, por ejemplo, mediante una molécula que tiene una constante de disociación K_D en equilibrio para el objetivo a la cual se une, por ejemplo, $de 10^{-4}$ M o menor, por ejemplo, 10^{-5} M, 10^{-6} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M o 10^{-12} M. En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado se une específicamente a un epítipo de un receptor de transferrina que se conserva entre especies (por ejemplo, que se conserva en forma estructural entre especies), por ejemplo, que se conserva entre especies de primates no humanos y humanos (por ejemplo, que se conserva en forma estructural entre especies de primates no humanos y humanos). En algunas modalidades, un polipéptido puede unirse exclusivamente a un receptor de transferrina humano.

[0221] Los términos “tratamiento”, “tratar” y similares se utilizan en la presente generalmente para hacer referencia a la obtención de un efecto farmacológico y/o fisiológico deseado. Las expresiones “tratar” o “tratamiento” pueden hacer referencia a cualquier indicio de éxito en el tratamiento o mejora de una enfermedad, lo que incluye trastornos asociados con la progranulina, tales como enfermedades neurodegenerativas (por ejemplo, demencia frontotemporal (FTD), lipofuscinosis ceroides neuronal (NCL), enfermedad de Niemann-Pick de tipo A (NPA), enfermedad de Niemann-Pick de tipo B (NPB), enfermedad

de Niemann-Pick de tipo C (NPC), esclerosis lateral amiotrófica (ALS) asociada con C9ORF72/FTD, ALS esporádica, enfermedad de Alzheimer (AD), enfermedad de Gaucher (por ejemplo, enfermedad de Gaucher de tipo 2 y 3) y enfermedad de Parkinson), aterosclerosis, un trastorno asociado con TDP-43 y degeneración macular relacionada con la edad (AMD), lo que incluye todo parámetro objetivo o subjetivo tal como la disminución, remisión, mejora de la supervivencia del paciente, aumento del tiempo o tasa de supervivencia, reducción de los síntomas o hacer que el trastorno sea más tolerable para el paciente, disminución de la velocidad de degeneración o deterioro, o mejora del bienestar físico o mental de un paciente. El tratamiento o mejora de los síntomas puede basarse en parámetros objetivos o subjetivos. El efecto del tratamiento puede compararse con un individuo o grupo de individuos que no reciban el tratamiento, o con el mismo paciente antes del tratamiento o en un momento distinto durante el tratamiento.

[0222] Los términos “sujeto”, “individuo” y “paciente”, como se utilizan de forma intercambiable en la presente, hacen referencia a un mamífero, que incluye, de modo no taxativo, seres humanos, primates no humanos, roedores (por ejemplo, ratas, ratones y conejillos de indias), conejos, vacas, cerdos, caballos y otras especies de mamíferos. En una modalidad, el paciente es un ser humano.

[0223] La expresión “excipiente farmacéuticamente aceptable” hace referencia a un ingrediente farmacéutico no activo que es compatible de forma biológica y farmacológica para usarlo en seres humanos o animales, tal como, de modo no taxativo, un amortiguador, portador o conservante.

[0224] Tal como se utiliza en la presente, una “cantidad terapéutica” o “cantidad terapéuticamente eficaz” de un agente es una cantidad del agente que trata los síntomas de una enfermedad en un sujeto.

[0225] El término “administrar” hace referencia a un método de administración de agentes, compuestos o composiciones al sitio deseado de acción biológica. Estos métodos incluyen, de forma no taxativa, administración tópica, administración parenteral, administración intravenosa, administración intradérmica, administración intramuscular, administración intratecal, administración colónica, administración rectal o administración intraperitoneal. En una modalidad, los polipéptidos que se describen en la presente se administran por vía intravenosa.

III. TERAPIA DE REEMPLAZO DE PROGRANULINA

[0226] En algunos aspectos, se describe en la presente una proteína de fusión que comprende: (i) un polipéptido Fc, que puede contener modificaciones (por ejemplo, una o más modificaciones que promuevan la heterodimerización) o puede ser un polipéptido Fc de tipo salvaje; y un polipéptido de progranulina; y (ii) un polipéptido Fc, que puede contener modificaciones (por ejemplo, una o más modificaciones que promuevan la heterodimerización) o puede ser un polipéptido Fc de tipo salvaje; y opcionalmente un polipéptido de progranulina. En algunas modalidades, uno o ambos polipéptidos Fc pueden contener modificaciones que tengan como resultado la unión a un receptor de la barrera hematoencefálica (BBB), por ejemplo, un receptor de transferrina (TfR). El polipéptido de progranulina puede ser deficiente en enfermedades neurodegenerativas. El polipéptido de progranulina puede ser deficiente en demencia frontotemporal (FTD), así como en otras enfermedades, tales como la enfermedad de Gaucher y la enfermedad de Alzheimer (AD). Un polipéptido de progranulina incorporado en la proteína de fusión puede unirse a la sortilina o prosaposina. En modalidades particulares, el polipéptido de progranulina se incorpora en la proteína de fusión a la sortilina.

[0227] En algunas modalidades, una proteína de fusión que comprende un polipéptido de progranulina y opcionalmente un polipéptido Fc modificado que se une a un receptor de la BBB, por ejemplo, un polipéptido Fc de unión a TfR, comprende una variante de un polipéptido de progranulina.

[0228] En algunas modalidades, un polipéptido de progranulina o una variante de este, que se encuentra presente en una proteína de fusión descrita en la presente, conserva al menos 25 % de su actividad en comparación con su actividad cuando no está unido a un polipéptido Fc o a un polipéptido Fc de unión a TfR. En algunas modalidades, un polipéptido de progranulina o una variante de este, que se encuentra presente en una proteína de fusión descrita en la presente, conserva al menos 10 % o al menos 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de su actividad en comparación con su actividad cuando no está unido a un polipéptido Fc o a un polipéptido Fc de unión a TfR. En algunas modalidades, un polipéptido de progranulina o una variante de este, que se encuentra presente en una proteína de fusión descrita en la presente, conserva al menos 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de su actividad en comparación con su actividad cuando no está unido a un polipéptido Fc o a un polipéptido Fc de unión a TfR. Una proteína de fusión descrita en la presente puede ser una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN que comprende: (a) una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:215, y

(b) una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:210. Una proteína de fusión descrita en la presente puede ser una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN que comprende:

(a) una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o

5 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:227, y (b) una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:210. Una proteína de fusión descrita en la presente puede ser

una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN que comprende: (a) una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la

10 secuencia de la SEQ ID NO:215, y (b) una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:291.

Una proteína de fusión descrita en la presente puede ser una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN que comprende: una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN que comprende: (a) una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al

15 menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:227, y (b) una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:291.

[0229] En algunas modalidades, la fusión a un polipéptido Fc no disminuye la expresión ni la actividad del polipéptido de progranulina o variante de este. En algunas modalidades, la fusión a un polipéptido Fc de unión a TfR no disminuye la expresión ni la actividad del polipéptido de progranulina.

IV. INDICACIONES

25 **[0230]** En algunas modalidades, las proteínas de fusión descritas en la presente que comprenden un polipéptido de progranulina son útiles para el tratamiento de una o más enfermedades neurodegenerativas que se seleccionan del grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, tauopatía primaria asociada con la edad, demencia de cuerpos de Lewy, parálisis supranuclear progresiva (PSP), demencia frontotemporal, demencia frontotemporal con Parkinson vinculada al cromosoma 17, demencia con granos argirófilos, esclerosis lateral amiotrófica, esclerosis lateral amiotrófica/complejo de parkinsonismo-demencia de Guam (ALS-PDC), degeneración corticobasal, encefalopatía traumática crónica, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, demencia pugilística, ovillos neurofibrilares difusos con calcificación, síndrome de Down, demencia familiar británica, demencia familiar

danesa, enfermedad de Gerstmann-Straussler-Scheinker, tauopatía glial globular, parkinsonismo guadalupiano con demencia, PSP guadalupiano, enfermedad de Hallevorden-Spatz, leucoencefalopatía difusa hereditaria con esferoides (HDLS), miositis por cuerpos de inclusión, atrofia multisistémica, distrofia miotónica, enfermedad de Nasu-Hakola, demencia con predominio de ovillos neurofibrilares, enfermedad de Niemann-Pick de tipo C, degeneración palido-ponto-nigral, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Pick, parkinsonismo posencefálico, angiopatía amiloide cerebral causada por proteínas priónicas, gliosis subcortical progresiva, panencefalitis esclerosante subaguda y demencia solo con ovillos.

- 10 **[0231]** Un trastorno asociado con la progranulina puede ser una enfermedad neurodegenerativa. Varias enfermedades neurodegenerativas pueden ser provocadas o vincularse con trastornos de depósito lisosomal caracterizados por la acumulación de macromoléculas no digeridas o parcialmente digeridas, lo que finalmente da como resultado una alteración celular y de organismos, así como anomalías clínicas. Los trastornos de
- 15 depósito lisosomal se definen por el tipo de sustrato acumulado, y pueden clasificarse como trastornos de depósito de colesterol, esfingolipidosis, oligosacaridosis, mucopolipidosis, mucopolisacaridosis, trastornos de depósito de lipoproteínas, lipofuscinosis ceroides neuronales y otros. En algunos casos, los trastornos de depósito lisosomal también incluyen deficiencias o defectos en proteínas que dan como resultado la acumulación de
- 20 macromoléculas, tales como proteínas necesarias para la modificación postraduccion normal de enzimas lisosomales o proteínas importantes para el intercambio lisosomal correcto. Los ejemplos de enfermedades neurodegenerativas que pueden ser provocadas o vincularse con trastornos de depósito lisosomal incluyen, por ejemplo, demencia frontotemporal (FTD), lipofuscinosis ceroides neuronal (NCL, por sus siglas en inglés),
- 25 enfermedad de Niemann-Pick de tipo A (NPA), enfermedad de Niemann-Pick de tipo B (NPB), enfermedad de Niemann-Pick de tipo C (NPC), esclerosis lateral amiotrófica (ALS, por sus siglas en inglés) asociada con C9ORF72/FTD, ALS esporádica, enfermedad de Alzheimer (AD, por sus siglas en inglés), enfermedad de Gaucher (por ejemplo, enfermedades de Gaucher de tipo 2 y 3) y enfermedad de Parkinson. Los ejemplos de otros
- 30 trastornos asociados con la progranulina incluyen, por ejemplo, aterosclerosis, un trastorno asociado con TDP-43 y degeneración macular asociada con la edad (AMD). Estos trastornos asociados con la progranulina (por ejemplo, una enfermedad neurodegenerativa, tal como demencia frontotemporal (FTD)) pueden beneficiarse de las proteínas de fusión o polipéptidos que comprenden un polipéptido de progranulina o una variante de este como

se describe en la presente.

[0232] La demencia frontotemporal (FTD) es un trastorno neurodegenerativo progresivo. La FTD incluye un espectro de enfermedades clínica, patológica y genéticamente heterogéneas que presentan la intervención selectiva de los lóbulos frontal y temporal (Gazzina et ál., *Eur J Pharmacol.* 817:76-85, 2017). Las manifestaciones clínicas de la FTD incluyen alteraciones del comportamiento y la personalidad, déficits ejecutivos frontales y disfunción lingüística. En función de la diversidad de fenotipos clínicos, se han identificado distintas presentaciones, tales como variantes conductuales de FTD (bvFTD) y afasia progresiva primaria (PPA, por sus siglas en inglés), que puede ser PPA de variante no fluente/agramática (avPPA) o PPA de variante semántica (svPPA). Estas presentaciones clínicas también se superponen con parkinsonismo atípico, tal como síndrome corticobasal (CBS), parálisis supranuclear progresiva (PSP) y esclerosis lateral amiotrófica (ALS) (Gazzina et ál., *Eur J Pharmacol.* 817:76-85, 2017). La FTD se asocia con diversos rasgos característicos neuropatológicos, que incluyen la patología de tau en neuronas y astrocitos o inclusiones de ubiquitina citoplasmática en las neuronas. La proteína de unión a ADN de activación en trans con un peso molecular de 43 kDa (TDP-43) es la patología de proteína ubiquitinada más prominente que se acumula en la mayoría de los casos de FTD, así como en la ALS (Petkau y Leavitt, *Trends Neurosci.* 37(7):388-98, 2014). La FTD es una causa significativa de la demencia temprana, donde hasta el 80 % de los casos se presenta entre los 45 y 64 años. La enfermedad también presenta un componente familiar significativo, donde alrededor de 30-50 % de los casos informa un historial familiar de la enfermedad (Petkau y Leavitt, *supra*).

[0233] Si bien varios genes se han vinculado a la FTD, uno de los genes mutados con mayor frecuencia en la FTD es *GRN*, que se mapea al cromosoma humano 17q21 y codifica la proteína con alto contenido de cisteína progranulina (también conocida como proepitelina y acrogranina). Las estimaciones recientes sugieren que las mutaciones de *GRN* representan el 5-20 % de los pacientes con FTD con historial familiar positivo y 1-5 % de casos esporádicos (Rademakers et ál., *supra*). Se desconocen los mecanismos moleculares y celulares precisos que subyacen a la neurodegeneración y los procesos de la enfermedad en la FTD asociada a *GRN*, aunque la caracterización fenotípica de ratones con inactivación de *GRN* combinada con análisis histológicos del cerebro de los pacientes sugiere que tanto la inflamación como las anomalías lisosomales son fundamentales para la enfermedad (Kao et ál., *Nat Rev Neurosci.* 18(6):325-333, 2017). De hecho, se encuentra presente una gliosis masiva en las regiones corticales de los pacientes (Lui et al., *Cell*.

165(4):921-35, 2016) y se ha detectado lipofuscina, un pigmento lisosomal que denota un trastorno lisosomal, en el ojo y corteza de los portadores de *GRN* mutada que incluyen pacientes e individuos presintomáticos (Ward et ál., *Sci Transl Med.* 9(385), 2017).

[0234] Se han informado y mapeado en el gen más de setenta mutaciones de enfermedades de *GRN*, donde dan como resultado alelos de pérdida confirmada o prevista de la función (LOF) (Ji et ál. *J Med Genet.* 54:145-154, 2017). La mayoría de las mutaciones heterocigotas vinculadas a la FTD provocan una reducción de alrededor de 50 % del nivel de ARNm principalmente como resultado de la disminución de ARNm sin sentido y una reducción comparable del nivel de proteína de progranulina (Petkau y Leavitt, *supra*; Kao et ál., *supra*). También se hallan niveles menores de progranulina en la sangre (suero) y líquido cefalorraquídeo (LCR) de los portadores, incluso individuos presintomáticos (Finch et ál., *Nat Rev Neurosci.* 18(6):325-333, 2017; Goossens et ál., *Alzheimers Res Ther.* 10(1):31, 2018; Meeter et ál., *Dement Geriatr Cogn Dis Extra.* 6(2):330-340, 2016). Por lo tanto, se considera que la haploinsuficiencia es el mecanismo principal de la enfermedad en la FTD asociada con *GRN*, lo que sugiere que los abordajes terapéuticos que elevan los niveles de progranulina en los portadores pueden retrasar la edad de la aparición, así como la evolución de la FTD (Petkau y Leavitt, *supra*; Kao et ál., *supra*). Este concepto se ve respaldado por estudios genéticos humanos que indican que una variante del gen *TMEM106B* potencia los niveles de progranulina un 25 % y retrasa la edad de la aparición de la FTD asociada con *GRN* 13 años (Nicholson y Rademakers, *Acta Neuropathol.* 132(5):639-651, 2016).

[0235] También se han informado mutaciones homocigotas de *GRN*, aunque los portadores presentan un fenotipo clínico muy diferente conocido como lipofuscinosis ceroides neuronal (NCL) (enfermedad de Batten; incidencia 1-2,5 en 100 000 nacidos vivos; Cotman et ál., *Curr Neurol Neurosci Rep.* 13(8):366, 2013), que es un trastorno de depósito lisosomal (Smith et ál., *Am J Hum Genet.* 90(6):1102-7, 2012; Almeida et ál., *Neurobiol Aging.* 41:200.e1-200.e5, 2016). *GRN* es, de hecho, uno de los 14 genes neuronales de lipofuscinosis ceroides (*CLN*) que se ha informado que están vinculados con la NCL y *GRN* también se conoce como *CLN11* (Kollmann et ál., *Biochim Biophys Acta.* 1832(11):1866-81, 2013). Las proteínas de fusión o polipéptidos que comprenden un polipéptido de progranulina o una variante de este descritos en la presente pueden presentar propiedades antiinflamatorias y potencian la función lisosomal, cualquiera de los cuales puede ser favorable en la NCL.

[0236] Los pacientes con enfermedad de Gaucher que portan mutaciones homocigotas

en el gen *GBA* tienen niveles menores de progranulina en su suero (Jian et ál., *EBioMedicine* 11:127–137, 2016). Los pacientes con enfermedad de Parkinson con mutaciones heterocigotas en *GBA* también pueden tener niveles menores de progranulina. Las proteínas de fusión o polipéptidos que comprenden un polipéptido de progranulina o una variante de este descritos en la presente pueden proporcionar beneficios terapéuticos en el tratamiento de la enfermedad de Gaucher o la enfermedad de Parkinson.

[0237] Determinadas variantes de *GRN* se han vinculado a la AD (Rademakers et ál., *supra*; Brouwers et ál., *Neurology*. 71(9):656-64, 2008; Lee et ál., *Neurodegener Dis*. 8(4):216-20, 2011; Viswanathan et ál., *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 150B(5):747-50, 2009) y la patología de TDP-43 es común en el cerebro de pacientes con AD (Youmans y Wolozin, *Exp Neurol*. 237(1):90-5, 2012). También se ha demostrado que la administración de genes de progranulina disminuye la carga amiloide en modelos de ratón de AD (van Kampen y Kay, *PLoS One*. 12(8):e0182896, 2017). Por lo tanto, las proteínas de fusión o polipéptidos que comprenden un polipéptido de progranulina o una variante de este descritos en la presente también pueden otorgar beneficios terapéuticos en el tratamiento de la AD.

[0238] La enfermedad de Niemann-Pick de tipo A y B (NPA and NPB) es resultado de mutaciones en el gen que codifica la esfingomielinasa ácida (SMPD1). La enfermedad de Niemann-Pick de tipo C (NPC) es resultado de mutaciones en los genes implicados en el transporte de colesterol, es decir, NPC1 y NPC2 (Kolter y Sandhoff, *Annu Rev Cell Dev Biol*. 21:81-103, 2005; Kobayashi et ál., *Nat Cell Biol*. 1(2):113-8, 1999). Las proteínas de fusión o polipéptidos que comprenden un polipéptido de progranulina o una variante de este descritos en la presente pueden proporcionar beneficios terapéuticos en el tratamiento de NPA, NPB y/o NPC.

[0239] La vasta mayoría de casos de ALS presenta la patología de TDP-43, que también se comparte con los pacientes que portan mutaciones de *GRN* (Petkau y Leavitt, *Trends Neurosci*. 37(7):388-98, 2014; Rademakers et ál., *Nat Rev Neurol*. 8(8):423-34, 2012). Entre todos los casos de ALS, las expansiones de repeticiones de GGGGCC dentro del gen de C9ORF72 son la causa más común de ALS y una causa significativa de FTD. Las frecuencias de mutación promedio informadas en poblaciones de América del Norte y Europa son de 37 % para ALS familiar, 6 % para ALS esporádica, 21 % para FTD familiar y 6 % para pacientes con FTD esporádica (Rademakers et ál., *supra*). Además, la variante *TMEM106B* que es protectora en FTD asociada con *GRN* también es protectora en pacientes con FTD que presentan expansiones de repeticiones en el gen de C9ORF72 (van

Blitterswijk et ál., *Acta Neuropathol.* 127(3):397-406, 2014). Las proteínas de fusión o polipéptidos que comprenden un polipéptido de progranulina o una variante de este descritos en la presente pueden reducir la patología de TDP-43 en ALS/FTD asociada con C9ORF72 al promover la función lisosomal y/o disminuir la inflamación.

- 5 **[0240]** La AMD es una enfermedad degenerativa y una causa principal de ceguera en el mundo desarrollado. Provoca daño a la mácula, un pequeño punto cerca del centro de la retina y la parte del ojo necesaria para una visión central nítida. Los cambios degenerativos en el ojo y la pérdida de la visión pueden ser causados por una función deteriorada de los lisosomas y acumulaciones de proteínas dañinas detrás de la retina (Viiri et ál., *PLoS One.*
- 10 8(7):e69563, 2013). A medida que evoluciones la enfermedad, se dañan las células sensoriales de la retina en el área de la visión central, lo que lleva a la pérdida de la visión central. Las proteínas de fusión o polipéptidos que comprenden un polipéptido de progranulina o una variante de este descritos en la presente pueden proporcionar beneficios terapéuticos en el tratamiento de la AMD.

15

V. MODIFICACIONES DEL POLIPÉPTIDO FC PARA LA UNIÓN AL RECEPTOR DE LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA (BBB)

- [0241]** En algunos aspectos, se proporcionan en la presente proteínas de fusión que
- 20 pueden transportarse a través de la barrera hematoencefálica (BBB). Dicha proteína comprende un polipéptido Fc modificado que se une a un receptor de BBB. Los receptores de BBB se expresan en los endotelios de BBB, así como también otros tipos de células y tejidos. En algunas modalidades, el receptor de BBB es un receptor de transferrina (TfR).

- [0242]** Los residuos de aminoácidos designados en diversas modificaciones Fc, que
- 25 incluyen los introducidos en un polipéptido Fc modificado que se une a un receptor de BBB, por ejemplo, TfR, se numeran en la presente mediante el uso del índice de numeración EU. Cualquier polipéptido Fc, por ejemplo, un polipéptido Fc de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4, puede tener modificaciones, por ejemplo, sustituciones de aminoácidos, en una o más posiciones como se describe en la presente.

- 30 **[0243]** Un polipéptido Fc modificado (por ejemplo, que potencia la heterodimerización y/o la unión al receptor de BBB) presente en una proteína de fusión descrito en la presente puede tener una identidad de al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a una secuencia de la región Fc natural o un fragmento de esta, por ejemplo, un fragmento con una longitud de al menos 50

aminoácidos o al menos 100 aminoácidos, o más. En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de Fc natural es la secuencia de región Fc de la SEQ ID NO:1. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado tiene una identidad de al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a los aminoácidos 1-110 de la SEQ ID NO:1, o a los aminoácidos 111-217 de la SEQ ID NO:1 o un fragmento de esta, por ejemplo, un fragmento con una longitud de al menos 50 aminoácidos o al menos 100 aminoácidos, o más.

[0244] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado (por ejemplo, que potencia la heterodimerización y/o unión al receptor de BBB) comprende al menos 50 aminoácidos, o al menos 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 o 95 o más, o al menos 100 aminoácidos, o más, que corresponden a una secuencia de aminoácidos de región Fc. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende al menos 25 aminoácidos continuos, al menos 30, 35, 40 o 45 aminoácidos continuos, 50 aminoácidos continuos, al menos 60, 65, 70, 75, 80 85, 90 o 95 o más aminoácidos continuos, o 100 o más aminoácidos continuos, que corresponden a una secuencia de aminoácidos de la región Fc natural, tal como la SEQ ID NO:1.

[0245] En algunas modalidades, el dominio que se modifica para la actividad de unión al receptor de BBB es un dominio CH3 de Ig humana, tal como un dominio CH3 de IgG1. El dominio CH3 puede ser de cualquier subtipo de IgG, es decir, IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. En el contexto de los anticuerpos IgG1, un dominio CH3 hace referencia al segmento de aminoácidos de alrededor de la posición 341 a alrededor de la posición 447 según se numeran de acuerdo con el esquema de numeración EU.

[0246] En algunas modalidades, el dominio que se modifica para la actividad de unión al receptor de BBB es un dominio CH2 de Ig humana, tal como un dominio CH2 de IgG. El dominio CH2 puede ser de cualquier subtipo de IgG, es decir, IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. En el contexto de los anticuerpos IgG1, un dominio CH2 hace referencia al segmento de aminoácidos de alrededor de la posición 231 a alrededor de la posición 340 según se numeran de acuerdo con el esquema de numeración EU.

[0247] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado (por ejemplo, de unión al receptor de BBB) presente en una proteína de fusión descrita en la presente comprende al menos una, dos o tres sustituciones; y, en algunas modalidades, al menos cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez sustituciones en las posiciones de aminoácido que comprenden 266, 267, 268, 269, 270, 271, 295, 297, 298 y 299, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

[0248] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado (por ejemplo, de unión al receptor de BBB) presente en una proteína de fusión descrita en la presente comprende al menos una, dos o tres sustituciones; y, en algunas modalidades, al menos cuatro, cinco, seis, siete, ocho o nueve sustituciones en las posiciones de aminoácido que comprenden 5 274, 276, 283, 285, 286, 287, 288, 289 y 290, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

[0249] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado (por ejemplo, de unión al receptor de BBB) presente en una proteína de fusión descrita en la presente comprende al menos una, dos o tres sustituciones; y, en algunas modalidades, al menos cuatro, cinco, 10 seis, siete, ocho, nueve o diez sustituciones en las posiciones de aminoácido que comprenden 268, 269, 270, 271, 272, 292, 293, 294, 296 y 300, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

[0250] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado (por ejemplo, de unión al receptor de BBB) presente en una proteína de fusión descrita en la presente comprende al menos una, dos o tres sustituciones; y, en algunas modalidades, al menos cuatro, cinco, 15 seis, siete, ocho o nueve sustituciones en las posiciones de aminoácido que comprenden 272, 274, 276, 322, 324, 326, 329, 330 y 331, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

[0251] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado (por ejemplo, de unión al receptor de BBB) presente en una proteína de fusión descrita en la presente comprende al menos una, dos o tres sustituciones; y, en algunas modalidades, al menos cuatro, cinco, 20 seis o siete sustituciones en las posiciones de aminoácido que comprenden 345, 346, 347, 349, 437, 438, 439 y 440, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

[0252] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado (por ejemplo, de unión al receptor de BBB) presente en una proteína de fusión descrita en la presente comprende al menos una, dos o tres sustituciones; y, en algunas modalidades, al menos cuatro, cinco, 25 seis, siete, ocho o nueve sustituciones en las posiciones de aminoácido 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 y 421, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

30 Sitios de unión a FcRn

[0253] En determinados aspectos, los polipéptidos Fc modificados (por ejemplo, de unión al receptor de BBB) o polipéptidos Fc presentes en una proteína de fusión descrita en la presente que no se unen específicamente a un receptor de BBB también pueden comprender un sitio de unión a FcRn. En algunas modalidades, el sitio de unión a FcRn se

encuentra dentro del polipéptido Fc o un fragmento de este.

[0254] En algunas modalidades, el sitio de unión a FcRn comprende un sitio de unión a FcRn natural. En algunas modalidades, el sitio de unión a FcRn no comprende cambios de aminoácidos con respecto a la secuencia de aminoácidos de un sitio de unión a FcRn natural. En algunas modalidades, el sitio de unión a FcRn natural es un sitio de unión a IgG, por ejemplo, un sitio de unión a IgG humana. En algunas modalidades, el sitio de unión a FcRn comprende una modificación que altera la unión a FcRn.

[0255] En algunas modalidades, un sitio de unión a FcRn tiene uno o más residuos de aminoácidos que se mutan, por ejemplo, se sustituyen, donde la o las mutaciones aumentan la semivida en suero o no reducen sustancialmente la semivida en suero (es decir, reducen la semivida en suero no más de un 25 % en comparación con un polipéptido Fc modificado homólogo que tiene los residuos de tipo salvaje en las posiciones mutadas cuando se someten a ensayo en las mismas condiciones). En algunas modalidades, un sitio de unión a FcRn tiene uno o más residuos de aminoácidos que se sustituyen en las posiciones 250-256, 307, 380, 428 y 433-436, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

[0256] En algunas modalidades, uno o más residuos en un sitio de unión a FcRn o cerca de este sufren una mutación, con respecto a una secuencia de IgG humana natural, para extender la semivida en suero del polipéptido modificado. En algunas modalidades, se introducen mutaciones en una, dos o tres de las posiciones 252, 254 y 256. En algunas modalidades, las mutaciones son M252Y, S254T y T256E. En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado comprende además las mutaciones M252Y, S254T y T256E. En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado comprende una sustitución en una, dos o las tres de las posiciones T307, E380 y N434, de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, las mutaciones son T307Q y N434A. En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado comprende las mutaciones T307A, E380A y N434A. En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado comprende sustituciones en las posiciones T250 y M428, de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende las mutaciones T250Q y/o M428L. En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado comprende sustituciones en las posiciones M428 y N434, de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende las mutaciones M428L y N434S. En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado comprende una mutación N434S o N434A.

VI. POLIPÉPTIDOS FC DE UNIÓN AL RECEPTOR DE TRANSFERRINA

[0257] La presente sección describe la generación de polipéptidos Fc modificados de acuerdo con la descripción que se unen al receptor de transferrina (TfR) y pueden transportarse a través de la barrera hematoencefálica (BBB).

Polipéptidos Fc de unión a TfR que comprenden mutaciones en el dominio CH3

[0258] En algunas mutaciones, un polipéptido Fc modificado que se une específicamente a TfR comprende sustituciones en un dominio CH3. En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado comprende un dominio CH3 de Ig humana, tal como un dominio CH3 de IgG, que se modifica para la actividad de unión al TfR. El dominio CH3 puede ser de cualquier subtipo de IgG, es decir, IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. En el contexto de los anticuerpos IgG, un dominio CH3 hace referencia a un segmento de aminoácidos de alrededor de la posición 341 a alrededor de la posición 447 según se numeran de acuerdo con el esquema de numeración EU.

[0259] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado que se une específicamente a TfR se une al dominio apical de TfR y puede unirse a TfR sin bloquear ni inhibir de otra forma la unión de la transferrina al TfR. En algunas modalidades, la unión de transferrina a TfR no se ve sustancialmente inhibida. En algunas modalidades, la unión de transferrina a TfR se inhibe menos de alrededor de 50 % (por ejemplo, menos de alrededor de 45 %, 40 %, 35 %, 30 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 % o 5 %). En algunas modalidades, la unión de transferrina a TfR se inhibe menos de alrededor de 20 % (por ejemplo, menos de alrededor de 19 %, 18 %, 17 %, 16 %, 15 %, 14 %, 13 %, 12 %, 11 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 % o 1%).

[0260] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado que se une específicamente a TfR comprende al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o nueve sustituciones en las posiciones 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 y 421, de acuerdo con el esquema de numeración EU. Las sustituciones ilustrativas que pueden introducirse en estas posiciones se muestran en las Tablas 6 y 7 al final de la sección de Ejemplos. En algunas modalidades, el aminoácido de la posición 388 y/o 421 es un aminoácido aromático, por ejemplo, Trp, Phe o Tyr. En algunas modalidades, el aminoácido de la posición 388 es Trp. En algunas modalidades, el aminoácido aromático de la posición 421 es Trp o Phe.

[0261] En algunas modalidades, se sustituye al menos una posición de las siguientes:

Leu, Tyr, Met o Val en la posición 384; Leu, Thr, His o Pro en la posición 386; Val, Pro o un aminoácido ácido en la posición 387; un aminoácido aromático, por ejemplo, Trp en la posición 388; Val, Ser o Ala en la posición 389; un aminoácido ácido, Ala, Ser, Leu, Thr o Pro en la posición 413; Thr o un aminoácido ácido en la posición 416; o Trp, Tyr, His o Phe en la posición 421. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado puede comprender una sustitución conservadora, por ejemplo, un aminoácido en el mismo grupo de carga, agrupación por hidrofobicidad, agrupación por estructura anular de cadena lateral (por ejemplo, aminoácidos aromáticos) o agrupación por tamaño, y/o agrupación polar o no polar, de un aminoácido específico en una o más posiciones del conjunto. Por lo tanto, por ejemplo, Ile puede encontrarse en la posición 384, 386 y/o en la posición 413. En algunas modalidades, el aminoácido ácido de la posición uno, dos o cada una de las posiciones 387, 413, y 416 es Glu. En otras modalidades, el aminoácido ácido de una, dos o cada una de las posiciones 387, 413 y 416 es Asp. En algunas modalidades, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete o las ocho posiciones 384, 386, 387, 388, 389, 413, 416 y 421 tienen una sustitución de aminoácidos tal como se especifica en este párrafo.

[0262] En algunas modalidades, un polipéptido Fc que se modifica tal como se describe en los dos párrafos anteriores comprende un Asn natural en la posición 390. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende Gly, His, Gln, Leu, Lys, Val, Phe, Ser, Ala o Asp en la posición 390. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende además una, dos, tres o cuatro sustituciones en las posiciones que comprenden 380, 391, 392 y 415, de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, Trp, Tyr, Leu o Gln pueden estar presentes en la posición 380. En algunas modalidades, Ser, Thr, Gln o Phe pueden estar presentes en la posición 391. En algunas modalidades, Gln, Phe o His pueden estar presentes en la posición 392. En algunas modalidades, Glu puede estar presente en la posición 415.

[0263] En determinadas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once posiciones que se seleccionan de las siguientes: Trp, Leu o Glu en la posición 380; Tyr o Phe en la posición 384; Thr en la posición 386; Glu en la posición 387; Trp en la posición 388; Ser, Ala, Val o Asn en la posición 389; Ser o Asn en la posición 390; Thr o Ser en la posición 413; Glu o Ser en la posición 415; Glu en la posición 416; y/o Phe en la posición 421. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende las once posiciones de la siguiente manera: Trp, Leu o Glu en la posición 380; Tyr o Phe en la posición 384; Thr en la posición 386; Glu en la posición 387; Trp en la posición 388; Ser, Ala, Val o Asn en la posición 389; Ser o Asn en la posición 390;

Thr o Ser en la posición 413; Glu o Ser en la posición 415; Glu en la posición 416; y/o Phe en la posición 421.

[0264] En determinadas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende Leu o Met en la posición 384; Leu, His o Pro en la posición 386; Val en la posición 387; Trp en la posición 388; Val o Ala en la posición 389; Pro en la posición 413; Thr en la posición 416; y/o Trp en la posición 421. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende además Ser, Thr, Gln o Phe en la posición 391. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende además Trp, Tyr, Leu o Gln en la posición 380 y/o Gln, Phe o His en la posición 392. En algunas modalidades, Trp se encuentra presente en la posición 380 y/o Gln se encuentra presente en la posición 392. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado no tiene un Trp en la posición 380.

[0265] En otras modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende Tyr en la posición 384; Thr en la posición 386; Glu o Val y la posición 387; Trp en la posición 388; Ser en la posición 389; Ser o Thr en la posición 413; Glu en la posición 416; y/o Phe en la posición 421. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende un Asn natural en la posición 390. En determinadas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende además Trp, Tyr, Leu o Gln en la posición 380; y/o Glu en la posición 415. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende además Trp en la posición 380 y/o Glu en la posición 415.

[0266] En modalidades adicionales, el polipéptido Fc modificado comprende además una, dos o tres sustituciones en las posiciones que comprenden 414, 424 y 426, de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, la posición 414 es Lys, Arg, Gly o Pro; la posición 424 es Ser, Thr, Glu o Lys; y/o la posición 426 es Ser, Trp o Gly.

[0267] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende una o más sustituciones de las que figuran a continuación: Trp en la posición 380; Thr en la posición 386; Trp en la posición 388; Val en la posición 389; Thr o Ser en la posición 413; Glu en la posición 415; y/o Phe en la posición 421, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

[0268] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado tiene una identidad de al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a los aminoácidos 111-217 de cualquiera de las SEQ ID NO:4-90, 93-96 y 101-104 (por ejemplo, las SEQ ID NO:34-38, 58 y 60-90). En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado tiene una identidad de al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a cualquiera de las SEQ ID NO:4-90, 93-96 y 101-104 (por ejemplo, las SEQ ID NO:34-38, 58 y 60-90). En

algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende los aminoácidos de las posiciones del índice EU 384-390 y/o 413-421 de cualquiera de las SEQ ID NO:4-90, 93-96 y 101-104 (por ejemplo, las SEQ ID NO:34-38, 58 y 60-90). En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende los aminoácidos de las posiciones del índice EU 380-390 y/o 413-421 de cualquiera de 4-90, 93-96 y 101-104 (por ejemplo, las SEQ ID NO:34-38, 58 y 60-90). En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende los aminoácidos de las posiciones del índice EU 380-392 y/o 413-426 de cualquiera de las SEQ ID NO:4-90, 93-96 y 101-104 (por ejemplo, las SEQ ID NO:34-38, 58 y 60-90).

[0269] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado tiene una identidad de al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a cualquiera de las SEQ ID NO:4-90, 93-96 y 101-104 (por ejemplo, las SEQ ID NO:34-38, 58 y 60-90), y comprende además al menos cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece, catorce, quince o dieciséis de las posiciones, numeradas de acuerdo con el índice EU, de la siguiente manera: Trp, Tyr, Leu, Gln o Glu en la posición 380; Leu, Tyr, Met o Val en la posición 384; Leu, Thr, His o Pro en la posición 386; Val, Pro o un aminoácido ácido en la posición 387; un aminoácido aromático, por ejemplo, Trp, en la posición 388; Val, Ser o Ala en la posición 389; Ser o Asn en la posición 390; Ser, Thr, Gln o Phe en la posición 391; Gln, Phe o His en la posición 392; un aminoácido ácido, Ala, Ser, Leu, Thr o Pro en la posición 413; Lys, Arg, Gly o Pro en la posición 414; Glu o Ser en la posición 415; Thr o un aminoácido ácido en la posición 416; Trp, Tyr, His o Phe en la posición 421; Ser, Thr, Glu o Lys en la posición 424; y Ser, Trp o Gly en la posición 426.

[0270] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:34-38, 58 y 60-90. En otras modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:34-38, 58 y 60-90, pero en la que se encuentran sustituidos uno, dos o tres aminoácidos.

[0271] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende mutaciones adicionales tales como las mutaciones descritas en la sección VII que figura más adelante, que incluyen, de modo no taxativo, una mutación de botón (por ejemplo, T366W según la numeración EU), mutaciones de ojal (por ejemplo, T366S, L368A e Y407V según la numeración EU), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L234A, L235A y/o P329G (por ejemplo, L234A y L235A) según la numeración EU) y/o mutaciones que aumentan la estabilidad en suero (por ejemplo, M252Y, S254T y T256E según la numeración EU). A modo de ejemplo, las SEQ ID NO:136-210 proporcionan ejemplos no

taxativos de polipéptidos Fc modificados con mutaciones en el dominio CH3 (por ejemplo, los clones CH3C.35.21.17, CH3C.35.20.1, CH3C.35.23.2, CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.21.17.2 y CH3C.35.23) que comprenden una o más de estas mutaciones adicionales.

5 **[0272]** En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende una mutación de botón (por ejemplo, T366W según la numeración EU) y tiene una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:136, 137, 149, 161, 173, 185 y 197. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:136, 137, 149, 161,
10 173, 185 y 197. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende la secuencia de la SEQ ID NO:136.

[0273] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende una mutación de botón (por ejemplo, T366W según la numeración EU) y mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L234A, L235A y/o P329G (por ejemplo, L234A y L235A)
15 según la numeración EU), y tiene una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:138, 139, 150, 151, 162, 163, 174, 175, 186, 187, 198, 199, 209 y 210. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:138, 139, 150, 151, 162, 163, 174, 175, 186, 187, 198 y 199. En algunas modalidades, el
20 polipéptido Fc modificado comprende la secuencia de la SEQ ID NO:150.

[0274] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende una mutación de botón (por ejemplo, T366W según la numeración EU) y mutaciones que aumentan la estabilidad en suero (por ejemplo, M252Y, S254T y T256E según la numeración EU), y tiene una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a la
25 secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:140, 152, 164, 176, 188 y 200. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:140, 152, 164, 176, 188 y 200.

[0275] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende una mutación de botón (por ejemplo, T366W según la numeración EU), mutaciones que modulan la
30 función efectora (por ejemplo, L234A, L235A y/o P329G (por ejemplo, L234A y L235A) según la numeración EU) y mutaciones que aumentan la estabilidad en suero (por ejemplo, M252Y, S254T y T256E según la numeración EU), y tiene una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:141, 142, 153, 154, 165, 166, 177, 178, 189, 190, 201 y 202. En algunas modalidades,

el polipéptido Fc modificado comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:141, 142, 153, 154, 165, 166, 177, 178, 189, 190, 201 y 202.

[0276] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende mutaciones de ojal (por ejemplo, T366S, L368A y Y407V según la numeración EU) y tiene una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:143, 155, 167, 179, 191 y 203. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:143, 155, 167, 179, 191 y 203.

[0277] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende mutaciones de ojal (por ejemplo, T366S, L368A e Y407V según la numeración EU) y mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L234A, L235A y/o P329G (por ejemplo, L234A y L235A) según la numeración EU), y tiene una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:144, 145, 156, 157, 168, 169, 180, 181, 192, 193, 204 y 205. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:144, 145, 156, 157, 168, 169, 180, 181, 192, 193, 204 y 205.

[0278] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende mutaciones de ojal (por ejemplo, T366S, L368A e Y407V según la numeración EU) y mutaciones que aumentan la estabilidad en suero (por ejemplo, M252Y, S254T y T256E según la numeración EU), y tiene una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:146, 158, 170, 182, 194 y 206. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:146, 158, 170, 182, 194 y 206.

[0279] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende mutaciones de ojal (por ejemplo, T366S, L368A e Y407V según la numeración EU), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L234A, L235A y/o P329G (por ejemplo, L234A y L235A) según la numeración EU) y mutaciones que aumentan la estabilidad en suero (por ejemplo, M252Y, S254T y T256E según la numeración EU), y tiene una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:147, 148, 159, 160, 171, 172, 183, 184, 195, 196, 207 y 208. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:147, 148, 159, 160, 171, 172, 183, 184, 195, 196, 207 y 208.

[0280] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado que se une específicamente a TfR comprende al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho

sustituciones en las posiciones 345, 346, 347, 349, 437, 438, 439 y 440, de acuerdo con el esquema de numeración EU. Se proporcionan polipéptidos Fc modificados ilustrativos en las SEQ ID NO:111-115. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende Gly en la posición 437; Phe en la posición 438; y/o Asp en la posición 440. En algunas modalidades, Glu se encuentra presente en la posición 440. En determinadas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende al menos una sustitución en una posición de la siguiente manera: Phe o Ile en la posición 345; Asp, Glu, Gly, Ala o Lys en la posición 346; Tyr, Met, Leu, Ile o Asp en la posición 347; Thr o Ala en la posición 349; Gly en la posición 437; Phe en la posición 438; His Tyr, Ser o Phe en la posición 439; o Asp en la posición 440. En algunas modalidades, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete o las ocho de las posiciones 345, 346, 347, 349, 437, 438, 439 y 440 tienen una sustitución como se especifica en este párrafo. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado puede comprender una sustitución conservadora, por ejemplo, un aminoácido en el mismo grupo de carga, agrupación por hidrofobicidad, agrupación por estructura anular de cadena lateral (por ejemplo, aminoácidos aromáticos) o agrupación por tamaño, y/o agrupación polar o no polar, de un aminoácido específico en una o más posiciones del conjunto.

[0281] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado tiene una identidad de al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a los aminoácidos 111-217 de cualquiera de las SEQ ID NO:111-115. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado tiene una identidad de al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a las SEQ ID NO:111-115. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:111-115. En otras modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:111-115, pero en la que uno, dos o tres aminoácidos se encuentran sustituidos.

Polipéptidos Fc de unión a TfR que comprenden mutaciones en el dominio CH2

[0282] En algunas mutaciones, un polipéptido Fc modificado que se une específicamente a TfR comprende sustituciones en un dominio CH2. En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado comprende un dominio CH2 de Ig humana, tal como un dominio CH2 de IgG, que se modifica para la actividad de unión al TfR. El dominio CH2 puede ser de cualquier subtipo de IgG, es decir, IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. En el contexto de los anticuerpos IgG, un dominio CH2 hace referencia a un segmento de aminoácidos de alrededor de la posición

231 a alrededor de la posición 340 según el esquema de numeración EU.

[0283] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado que se une específicamente a TfR se une al dominio apical de TfR y puede unirse a TfR sin bloquear ni inhibir de otra forma la unión de la transferrina al TfR. En algunas modalidades, la unión de transferrina a TfR no se ve sustancialmente inhibida. En algunas modalidades, la unión de transferrina a TfR se inhibe menos de alrededor de 50 % (por ejemplo, menos de alrededor de 45 %, 40 %, 35 %, 30 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 % o 5 %). En algunas modalidades, la unión de transferrina a TfR se inhibe menos de alrededor de 20 % (por ejemplo, menos de alrededor de 19 %, 18 %, 17 %, 16 %, 15 %, 14 %, 13 %, 12 %, 11 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 % o 1%).

[0284] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado que se une específicamente a TfR comprende al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o nueve sustituciones en las posiciones 274, 276, 283, 285, 286, 287, 288 y 290, de acuerdo con el esquema de numeración EU. Se proporcionan polipéptidos Fc modificados ilustrativos en las SEQ ID NO:116-120. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende Glu en la posición 287 y/o Trp en la posición 288. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende al menos una sustitución en una posición de la siguiente manera: Glu, Gly, Gln, Ser, Ala, Asn, Tyr o Trp en la posición 274; Ile, Val, Asp, Glu, Thr, Ala o Tyr en la posición 276; Asp, Pro, Met, Leu, Ala, Asn o Phe en la posición 283; Arg, Ser, Ala o Gly en la posición 285; Tyr, Trp, Arg o Val en la posición 286; Glu en la posición 287; Trp o Tyr en la posición 288; Gln, Tyr, His, Ile, Phe, Val o Asp en la posición 289; o Leu, Trp, Arg, Asn, Tyr o Val en la posición 290. En algunas modalidades, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o las nueve de las posiciones 274, 276, 283, 285, 286, 287, 288 y 290 tienen una sustitución como se especifica en este párrafo. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado puede comprender una sustitución conservadora, por ejemplo, un aminoácido en el mismo grupo de carga, agrupación por hidrofobicidad, agrupación por estructura anular de cadena lateral (por ejemplo, aminoácidos aromáticos) o agrupación por tamaño, y/o agrupación polar o no polar, de un aminoácido específico en una o más posiciones del conjunto.

[0285] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende Glu, Gly, Gln, Ser, Ala, Asn o Tyr en la posición 274; Ile, Val, Asp, Glu, Thr, Ala o Tyr en la posición 276; Asp, Pro, Met, Leu, Ala o Asn en la posición 283; Arg, Ser o Ala en la posición 285; Tyr, Trp, Arg o Val en la posición 286; Glu en la posición 287; Trp en la posición 288; Gln, Tyr, His, Ile, Phe o Val en la posición 289; y/o Leu, Trp, Arg, Asn o Tyr en la posición 290. En

algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende Arg en la posición 285; Tyr o Trp en la posición 286; Glu en la posición 287; Trp en la posición 288; y/o Arg o Trp en la posición 290.

[0286] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado tiene una identidad de al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a los aminoácidos 1-110 de cualquiera de las SEQ ID NO:116-120. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado tiene una identidad de al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a las SEQ ID NO:116-120. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:116-120. En otras modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:116-120, pero en la que uno, dos o tres aminoácidos se encuentran sustituidos.

[0287] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado que se une específicamente a TfR comprende al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez sustituciones en las posiciones 266, 267, 268, 269, 270, 271, 295, 297, 298 y 299, de acuerdo con el esquema de numeración EU. Se proporcionan polipéptidos Fc modificados ilustrativos en las SEQ ID NO:121-125. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende Pro en la posición 270; Glu en la posición 295; y/o Tyr en la posición 297. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende al menos una sustitución en una posición de la siguiente manera: Pro, Phe, Ala, Met o Asp en la posición 266; Gln, Pro, Arg, Lys, Ala, Ile, Leu, Glu, Asp o Tyr en la posición 267; Thr, Ser, Gly, Met, Val, Phe, Trp o Leu en la posición 268; Pro, Val, Ala, Thr o Asp en la posición 269; Pro, Val o Phe en la posición 270; Trp, Gln, Thr o Glu en la posición 271; Glu, Val, Thr, Leu o Trp en la posición 295; Tyr, His, Val o Asp en la posición 297; Thr, His, Gln, Arg, Asn o Val en la posición 298; o Tyr, Asn, Asp, Ser o Pro en la posición 299. En algunas modalidades, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o las diez de las posiciones 266, 267, 268, 269, 270, 271, 295, 297, 298 y 299 tienen una sustitución como se especifica en este párrafo. En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado puede comprender una sustitución conservadora, por ejemplo, un aminoácido en el mismo grupo de carga, agrupación por hidrofobicidad, agrupación por estructura anular de cadena lateral (por ejemplo, aminoácidos aromáticos) o agrupación por tamaño, y/o agrupación polar o no polar, de un aminoácido específico en una o más posiciones del conjunto.

[0288] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende Pro, Phe o Ala

en la posición 266; Gln, Pro, Arg, Lys, Ala o Ile en la posición 267; Thr, Ser, Gly, Met, Val, Phe o Trp en la posición 268; Pro, Val, o Ala en la posición 269; Pro en la posición 270; Trp o Gln en la posición 271; Glu en la posición 295; Tyr en la posición 297; Thr, His o Gln en la posición 298; y/o Tyr, Asn, Asp o Ser en la posición 299.

5 **[0289]** En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende Met en la posición 266; Leu o Glu en la posición 267; Trp en la posición 268; Pro en la posición 269; Val en la posición 270; Thr en la posición 271; Val o Thr en la posición 295; His en la posición 197; His, Arg o Asn en la posición 198; y/o Pro en la posición 299.

10 **[0290]** En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende Asp en la posición 266; Asp en la posición 267; Leu en la posición 268; Thr en la posición 269; Phe en la posición 270; Gln en la posición 271; Val o Leu en la posición 295; Val en la posición 297; Thr en la posición 298; y/o Pro en la posición 299.

[0291] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado tiene una identidad de al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 % o al menos
15 95 % con respecto a los aminoácidos 1-110 de cualquiera de las SEQ ID NO:121-125. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado tiene una identidad de al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a las SEQ ID NO:121-125. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:121-125. En otras
20 modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:121-125, pero en la que uno, dos o tres aminoácidos se encuentran sustituidos.

[0292] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado que se une específicamente a TfR comprende al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve
25 o diez sustituciones en las posiciones 268, 269, 270, 271, 272, 292, 293, 294 y 300, de acuerdo con el esquema de numeración EU. Se proporcionan polipéptidos Fc modificados ilustrativos en las SEQ ID NO:126-130. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende al menos una sustitución en una posición de la siguiente manera:
30 Val o Asp en la posición 268; Pro, Met o Asp en la posición 269; Pro o Trp en la posición 270; Arg, Trp, Glu o Thr en la posición 271; Met, Tyr, o Trp en la posición 272; Leu o Trp en la posición 292; Thr, Val, Ile o Lys en la posición 293; Ser, Lys, Ala, o Leu en la posición 294; His, Leu o Pro en la posición 296; o Val o Trp en la posición 300. En algunas modalidades, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o las diez de las posiciones 268, 269, 270, 271, 272, 292, 293, 294 y 300 tienen una sustitución como se especifica en

este párrafo. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado puede comprender una sustitución conservadora, por ejemplo, un aminoácido en el mismo grupo de carga, agrupación por hidrofobicidad, agrupación por estructura anular de cadena lateral (por ejemplo, aminoácidos aromáticos) o agrupación por tamaño, y/o agrupación polar o no polar, de un aminoácido específico en una o más posiciones del conjunto.

[0293] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende Val en la posición 268; Pro en la posición 269; Pro en la posición 270; Arg o Trp en la posición 271; Met en la posición 272; Leu en la posición 292; Thr en la posición 293; Ser en la posición 294; His en la posición 296; y/o Val en la posición 300.

[0294] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende Asp en la posición 268; Met o Asp en la posición 269; Trp en la posición 270; Glu o Thr en la posición 271; Tyr o Trp en la posición 272; Trp en la posición 292; Val, Ile, o Lys en la posición 293; Lys, Ala, o Leu en la posición 294; Leu o Pro en la posición 296; y/o Trp en la posición 300.

[0295] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado tiene una identidad de al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a los aminoácidos 1-110 de cualquiera de las SEQ ID NO:126-130. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado tiene una identidad de al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a las SEQ ID NO:126-130. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:126-130. En otras modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:126-130, pero en la que uno, dos o tres aminoácidos se encuentran sustituidos.

[0296] En algunas modalidades, un polipéptido Fc modificado que se une específicamente a TfR tiene al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez sustituciones en las posiciones 272, 274, 276, 322, 324, 326, 329, 330 y 331, de acuerdo con el esquema de numeración EU. Se proporcionan polipéptidos Fc modificados ilustrativos en las SEQ ID NO:131-135. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende un Trp en la posición 330. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende al menos una sustitución en una posición de la siguiente manera: Trp, Val, Ile o Ala en la posición 272; Trp o Gly en la posición 274; Tyr, Arg o Glu en la posición 276; Ser, Arg o Gln en la posición 322; Val, Ser o Phe en la posición 324; Ile, Ser o Trp en la posición 326; Trp, Thr, Ser, Arg o Asp en la posición 329; Trp en la posición 330; o Ser, Lys, Arg o Val en la posición 331. En algunas modalidades, dos, tres, cuatro, cinco,

seis, siete, ocho o todas las nueve posiciones 272, 274, 276, 322, 324, 326, 329, 330 y 331 tienen una sustitución como se especifica en este párrafo. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado puede comprender una sustitución conservadora, por ejemplo, un aminoácido en el mismo grupo de carga, agrupación por hidrofobicidad, agrupación por estructura anular de cadena lateral (por ejemplo, aminoácidos aromáticos) o agrupación por tamaño, y/o agrupación polar o no polar, de un aminoácido específico en una o más posiciones del conjunto.

[0297] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o nueve posiciones seleccionadas de las siguientes: la posición 272 es Trp, Val, Ile o Ala; la posición 274 es Trp o Gly; la posición 276 es Tyr, Arg o Glu; la posición 322 es Ser, Arg o Gln; la posición 324 es Val, Ser o Phe; la posición 326 es Ile, Ser o Trp; la posición 329 es Trp, Thr, Ser, Arg, o Asp; la posición 330 es Trp; y la posición 331 es Ser, Lys, Arg o Val. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende Val o Ile en la posición 272; Gly en la posición 274; Arg en la posición 276; Arg en la posición 322; Ser en la posición 324; Ser en la posición 326; Thr, Ser o Arg en la posición 329; Trp en la posición 330; y/o Lys o Arg en la posición 331.

[0298] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado tiene una identidad de al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a los aminoácidos 1-110 de cualquiera de las SEQ ID NO:131-135. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado tiene una identidad de al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a las SEQ ID NO:131-135. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:131-135. En otras modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:131-135, pero en la que uno, dos o tres aminoácidos se encuentran sustituidos.

VII. MUTACIONES ADICIONALES DE POLIPÉPTIDOS FC

[0299] En algunos aspectos, una proteína de fusión descrita en la presente comprende dos polipéptidos Fc, donde cada uno puede comprender modificaciones independientemente seleccionadas o puede ser un polipéptido Fc de tipo salvaje, por ejemplo, un polipéptido Fc de IgG1 humana. En algunas modalidades, uno o ambos polipéptidos Fc contienen una o más modificaciones que le confieren una unión a un

receptor de la barrera hematoencefálica (BBB), por ejemplo, receptor de transferrina (TfR). Los ejemplos no taxativos de otras mutaciones que pueden introducirse en uno o ambos polipéptidos Fc incluyen, por ejemplo, mutaciones para aumentar la estabilidad en suero, para modular la función efectora, para afectar la glicosilación, para reducir la
 5 inmunogenicidad en seres humanos y/o para proporcionar la heterodimerización de botón y ojal de los polipéptidos Fc.

[0300] En algunas modalidades, los polipéptidos Fc modificados presentes en la proteína de fusión tienen una identidad de secuencia de aminoácidos de al menos alrededor de 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89
 10 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % con respecto a un polipéptido Fc de tipo salvaje correspondiente (por ejemplo, un polipéptido Fc de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 humana).

[0301] En algunas modalidades, los polipéptidos Fc presentes en la proteína de fusión incluyen mutaciones de botón y ojal para promover la formación de heterodímeros y
 15 obstaculizar la formación de homodímeros. En términos generales, las modificaciones introducen una protuberancia (“botón”) en la interfaz de un primer polipéptido y una cavidad (“ojal”) correspondiente en la interfaz de un segundo polipéptido, de forma tal que la protuberancia pueda colocarse en la cavidad con el fin de promover la formación de heterodímeros y, por lo tanto, obstaculizar la formación de homodímeros. Las
 20 protuberancias se construyen mediante la sustitución de cadenas laterales cortas de aminoácidos de la interfaz del primer polipéptido con cadenas laterales más grandes (por ejemplo, tirosina o triptófano). Se crean cavidades compensatorias de tamaño idéntico o similar a las protuberancias en la interfaz del segundo polipéptido mediante el reemplazo de las cadenas laterales de aminoácidos grandes con cadenas más pequeñas (por ejemplo,
 25 alanina o treonina). En algunas modalidades, dichas mutaciones adicionales se encuentran en una posición en el polipéptido Fc que no tiene un efecto negativo sobre la unión del polipéptido a un receptor de BBB, por ejemplo, TfR.

[0302] En una modalidad ilustrativa de un abordaje de botón y ojal para la dimerización, la posición 366 (según el esquema de numeración EU) de uno de los polipéptidos Fc
 30 presentes en la proteína de fusión comprende un triptófano en lugar de una treonina natural. El otro polipéptido Fc del dímero tiene una valina en la posición 407 (de acuerdo con el esquema de numeración EU) en lugar de la tirosina natural. El otro polipéptido Fc puede comprender además una sustitución en la que la treonina natural de la posición 366 (numerada de acuerdo con el esquema de numeración EU) se sustituye con una serina y

una leucina natural en la posición 368 (numerada de acuerdo con en el esquema de numeración EU) se sustituye con una alanina. Por lo tanto, uno de los polipéptidos Fc de una proteína de fusión descrita en la presente tiene la mutación de botón T366W y el otro polipéptido Fc tiene la mutación Y407V, que típicamente viene acompañada por las mutaciones de ojal T366S y L368A.

[0303] En algunas modalidades, pueden introducirse modificaciones para potenciar la semivida en suero. Por ejemplo, en algunas modalidades, uno o ambos polipéptidos Fc presentes en una proteína de fusión descrita en la presente pueden comprender una tirosina en la posición 252, una treonina en la posición 254 y un ácido glutámico en la posición 256, según el esquema de numeración EU. Por lo tanto, uno o ambos polipéptidos Fc pueden tener las sustituciones M252Y, S254T y T256E. De manera alternativa, uno o ambos polipéptidos Fc pueden tener las sustituciones M428L y N434S, según el esquema de numeración EU. De manera alternativa, uno o ambos polipéptidos Fc pueden tener una sustitución N434S o N434A.

[0304] En algunas modalidades, uno o ambos polipéptidos Fc presentes en una proteína de fusión descrita en la presente pueden comprender modificaciones que reducen la función efectora, es decir, que tienen una capacidad reducida de inducir determinadas funciones biológicas luego de unirse a un receptor de Fc expresado en una célula efectora que media la función efectora. Los ejemplos de funciones efectoras de anticuerpo incluyen, de modo no taxativo, la unión a C1q y la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), unión al receptor de Fc, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC, por sus siglas en inglés), fagocitosis mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCP, por sus siglas en inglés), regulación por disminución de los receptores de la superficie celular (por ejemplo, receptor de linfocitos B) y activación de linfocitos B. Las funciones efectoras pueden variar según la clase de anticuerpo. Por ejemplo, los anticuerpos IgG1 e IgG3 humanos naturales pueden provocar actividades de ADCC y CDC tras la unión a un receptor de Fc adecuado presente en una célula del sistema inmunitario; y una IgG1, IgG2, IgG3 y IgG4 humana natural puede provocar funciones de ADCP tras la unión al receptor de Fc adecuado presente en una célula inmunitaria.

[0305] En algunas modalidades, uno o ambos polipéptidos Fc presentes en una proteína de fusión descrita en la presente también pueden modificarse de forma que contengan otras modificaciones para la heterodimerización, por ejemplo, modificación electrostática de residuos de contacto dentro de una interfaz CH3-CH3 que están cargados de forma natural o modificaciones del parche hidrofóbico.

[0306] En algunas modalidades, uno o ambos polipéptidos Fc presentes en una proteína de fusión descrita en la presente pueden incluir modificaciones adicionales que modulan la función efectora.

[0307] En algunas modalidades, uno o ambos polipéptidos Fc presentes en una proteína de fusión descrita en la presente pueden comprender modificaciones que reducen o eliminan la función efectora. Las mutaciones del polipéptido Fc ilustrativas que reducen la función efectora incluyen, de modo no taxativo, sustituciones en un dominio CH2, por ejemplo, en las posiciones 234 y 235, de acuerdo con el esquema de numeración EU. Por ejemplo, en algunas modalidades, uno o ambos polipéptidos Fc pueden comprender residuos de alanina en las posiciones 234 y 235. Por lo tanto, uno o ambos polipéptidos Fc pueden tener sustituciones de L234A y L235A (LALA).

[0308] Otras mutaciones de polipéptidos Fc que modulan una función efectora incluyen, de modo no taxativo, las siguientes: la posición 329 puede tener una mutación en la que la prolina se sustituye con una glicina, una arginina o un residuo de aminoácido lo suficientemente grande como para destruir la interfaz del receptor de Fc/Fcγ que se forma entre la prolina 329 de Fc y los residuos de triptófano Trp 87 y Trp 110 de FcγRIII. Las sustituciones ilustrativas adicionales incluyen S228P, E233P, L235E, N297A, N297D y P331S, de acuerdo con el esquema de numeración EU. También pueden estar presentes sustituciones múltiples, por ejemplo, L234A y L235A de una región Fc de IgG1 humana; L234A, L235A y P329G de una región Fc de IgG1 humana; S228P y L235E de una región Fc de IgG4 humana; L234A y G237A de una región Fc de IgG1 humana; L234A, L235A, y G237A de una región Fc de IgG1 humana; V234A y G237A de una región Fc de IgG2 humana; L235A, G237A y E318A de una región Fc de IgG4 humana; y S228P y L236E de una región Fc de IgG4 humana, de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, uno o ambos polipéptidos Fc pueden tener una o más sustituciones de aminoácidos que modulan la ADCC, por ejemplo, sustituciones en las posiciones 298, 333 y/o 334, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

Polipéptidos Fc ilustrativos que comprenden mutaciones adicionales

[0309] A modo de ejemplo no taxativo, uno o ambos polipéptidos presentes en una proteína de fusión descrita en la presente pueden comprender mutaciones adicionales que incluyen una mutación de botón (por ejemplo, T366W según el esquema de numeración EU), mutaciones de ojal (por ejemplo, T366S, L368A e Y407V según el esquema de numeración EU), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L234A, L235A

y/o P329G (por ejemplo, L234A y L235A) según el esquema de numeración EU) y/o mutaciones que aumentan la estabilidad en suero (por ejemplo, M252Y, S254T y T256E según el esquema de numeración EU).

[0310] En algunas modalidades, un polipéptido Fc puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T366W de acuerdo con la numeración EU) y una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:1, 4-90 y 111-135. En algunas modalidades, un polipéptido Fc que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:1, 4-90 y 111-135 puede modificarse de forma que tenga una mutación de botón.

[0311] En algunas modalidades, un polipéptido Fc puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T366W según el esquema de numeración EU), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L234A, L235A y/o P329G (por ejemplo, L234A y L235A) según el esquema de numeración EU) y una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:1, 4-90 y 111-135. En algunas modalidades, un polipéptido Fc que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:1, 4-90 y 111-135 puede modificarse de forma que tenga una mutación de botón y mutaciones que modulan la función efectora.

[0312] En algunas modalidades, un polipéptido Fc puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T366W según el esquema de numeración EU), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero (por ejemplo, M252Y, S254T y/o T256E según el esquema de numeración EU) y una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:1, 4-90 y 111-135. En algunas modalidades, un polipéptido Fc que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:1, 4-90 y 111-135 puede modificarse de forma que tenga una mutación de botón y mutaciones que aumentan la estabilidad en suero.

[0313] En algunas modalidades, un polipéptido Fc puede tener una mutación de botón (por ejemplo, T366W según el esquema de numeración EU), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L234A, L235A y/o P329G (por ejemplo, L234A y L235A) según el esquema de numeración EU), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero (por ejemplo, M252Y, S254T y/o T256E según el esquema de numeración EU) y una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:1, 4-90 y 111-135. En algunas modalidades, un polipéptido Fc que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:1, 4-90 y 111-135 puede modificarse de forma que tenga una mutación de botón, mutaciones que modulan la función

efectora y mutaciones que aumentan la estabilidad en suero.

[0314] En algunas modalidades, un polipéptido Fc puede tener una mutación de ojal (por ejemplo, T366S, L368A e Y407V de acuerdo con la numeración EU) y una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:1, 4-90 y 111-135. En algunas modalidades, un polipéptido Fc que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:1, 4-90 y 111-135 puede modificarse de forma que tenga una mutación de ojal.

[0315] En algunas modalidades, un polipéptido Fc puede tener una mutaciones de ojal (por ejemplo, T366S, L368A e Y407V según el esquema de numeración EU), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L234A, L235A y/o P329G (por ejemplo, L234A y L235A) según el esquema de numeración EU) y una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:1, 4-90 y 111-135. En algunas modalidades, un polipéptido Fc que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:1, 4-90 y 111-135 puede modificarse de forma que tenga una mutación de ojal y mutaciones que modulan la función efectora.

[0316] En algunas modalidades, un polipéptido Fc puede tener mutaciones de ojal (por ejemplo, T366S, L368A e Y407V según el esquema de numeración EU), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero (por ejemplo, M252Y, S254T y/o T256E según el esquema de numeración EU) y una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:1, 4-90 y 111-135. En algunas modalidades, un polipéptido Fc que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:1, 4-90 y 111-135 puede modificarse de forma que tenga una mutación de ojal y mutaciones que aumentan la estabilidad en suero.

[0317] En algunas modalidades, un polipéptido Fc puede tener una mutaciones de ojal (por ejemplo, T366S, L368A e Y407V según el esquema de numeración EU), mutaciones que modulan la función efectora (por ejemplo, L234A, L235A y/o P329G (por ejemplo, L234A y L235A) según el esquema de numeración EU), mutaciones que aumentan la estabilidad en suero (por ejemplo, M252Y, S254T y/o T256E según el esquema de numeración EU) y una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:1, 4-90 y 111-135. En algunas modalidades, un polipéptido Fc que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:1, 4-90 y 111-135 puede modificarse de forma que tenga una mutación de ojal, mutaciones que modulan la función efectora y mutaciones que aumentan la estabilidad en suero.

VIII. PROTEÍNAS DE FUSIÓN ILUSTRATIVAS QUE COMPRENDEN UN POLIPÉPTIDO DE PROGRANULINA

[0318] En algunos aspectos, una proteína de fusión descrita en la presente comprende un primer polipéptido Fc que está unido a un polipéptido de progranulina o una variante de este; y un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de Fc con el primer polipéptido Fc. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc no incluyen una secuencia de región variable de cadena ligera y/o pesada de inmunoglobulina, ni una parte de unión al antígeno de esta. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc es un polipéptido Fc modificado y/o el segundo polipéptido Fc es un polipéptido Fc modificado. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc es un polipéptido Fc modificado. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado contiene una o más modificaciones que promueven su heterodimerización al otro polipéptido Fc. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado contiene una o más modificaciones que reducen la función efectora. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado contiene una o más modificaciones que extienden la semivida en suero. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado contiene una o más modificaciones que le confieren una unión a un receptor de la barrera hematoencefálica (BBB), por ejemplo, receptor de transferrina (TfR).

[0319] En otros aspectos, una proteína de fusión descrita en la presente comprende una primera cadena de polipéptidos que comprende un polipéptido Fc modificado que se une específicamente a un receptor de BBB, por ejemplo, TfR, y una segunda cadena de polipéptidos que comprende un polipéptido Fc que se dimeriza con el polipéptido Fc modificado para formar un dímero de Fc. Un polipéptido de progranulina puede unirse a cualquiera de la primera o la segunda cadenas de polipéptidos. En algunas modalidades, el polipéptido de progranulina se une a la segunda cadena de polipéptidos. En algunas modalidades, la proteína comprende dos polipéptidos de progranulina, cada uno de ellos enlazado a una de las cadenas de polipéptidos. En algunas modalidades, el polipéptido Fc puede ser un polipéptido de unión al receptor de BBB que se une específicamente al mismo receptor de BBB que el polipéptido Fc modificado de la primera cadena de polipéptidos. En algunas modalidades, el polipéptido Fc no se une específicamente a un receptor de BBB.

[0320] En algunas modalidades, una proteína de fusión descrita en la presente comprende una primera cadena de polipéptidos que comprende un polipéptido Fc modificado que se une específicamente a TfR y una segunda cadena de polipéptidos que comprende un polipéptido Fc, donde el polipéptido Fc modificado y el polipéptido Fc se

dimerizan para formar un dímero de Fc. En algunas modalidades, el polipéptido de progranulina se une a la primera cadena de polipéptidos. En algunas modalidades, el polipéptido de progranulina se une a la segunda cadena de polipéptidos. En algunas modalidades, el polipéptido Fc no se une específicamente a un receptor de BBB, por ejemplo, TfR.

[0321] En algunas modalidades, una proteína de fusión descrita en la presente comprende una primera cadena de polipéptidos que comprende un polipéptido Fc modificado que se une a TfR y comprende una sustitución de T366W (botón); y una segunda cadena de polipéptidos que comprende un polipéptido Fc que comprende sustituciones de T366S, L368A e Y407V (ojal). En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado y/o el polipéptido Fc comprende además las sustituciones de L234A y L235A (LALA). En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado y/o el polipéptido Fc comprende además las sustituciones de M252Y, S254T y T256E (YTE). En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado y/o el polipéptido Fc comprende además las sustituciones de L234A y L235A (LALA) y las sustituciones de M252Y, S254T y T256E (YTE). En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado y/o el polipéptido Fc comprende los residuos de tipo salvaje de IgG1 humana en las posiciones 234, 235, 252, 254, 256 y 366.

[0322] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende las mutaciones de botón, LALA e YTE según se especifica para cualquiera de las SEQ ID NO:93-96, 136, 137-142, 149-154, 161-166, 173-178, 185-190 y 197-202, y tiene una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a la secuencia respectiva; o comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:93-96, 136, 137-142, 149-154, 161-166, 173-178, 185-190 y 197-202. En algunas modalidades, el polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal, LALA e YTE según se especifica para cualquiera de las SEQ ID NO:97-100, y tiene una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a la secuencia respectiva; o comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:97-100. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende cualquiera de las SEQ ID NO:93-96, 136, 137-142, 149-154, 161-166, 173-178, 185-190 y 197-202, y el polipéptido Fc comprende cualquiera de las SEQ ID NO:97-100. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido Fc modificado y/o el polipéptido Fc incluye una parte de una región bisagra de IgG1 (por ejemplo, DKTHTCPPCP; SEQ ID NO:109). En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado tiene una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a cualquiera de las SEQ ID NO:110, 209 y 210, o

comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:110, 209 y 210.

[0323] En algunas modalidades, una proteína de fusión descrita en la presente comprende una primera cadena de polipéptidos que comprende un polipéptido Fc modificado que se une a TfR y comprende sustituciones de T366S, L368A e Y407V (ojal);

5 y una segunda cadena de polipéptidos que comprende un polipéptido Fc que comprende una sustitución de T366W (botón). En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado y/o el polipéptido Fc comprende además las sustituciones de L234A y L235A (LALA). En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado y/o el polipéptido Fc comprende además las sustituciones de M252Y, S254T y T256E (YTE). En algunas modalidades, el polipéptido
10 Fc modificado y/o el polipéptido Fc comprende además las sustituciones de L234A y L235A (LALA) y las sustituciones de M252Y, S254T y T256E (YTE). En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado y/o el polipéptido Fc comprende los residuos de tipo salvaje de IgG1 humana en las posiciones 234, 235, 252, 254, 256 y 366.

[0324] En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende las mutaciones
15 de ojal, LALA e YTE según se especifica para cualquiera de las SEQ ID NO:101-104, 143-148, 155-160, 167-172, 179-184, 191-196 y 203-208, y tiene una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a la secuencia respectiva; o comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:101-104, 143-148, 155-160, 167-172, 179-184, 191-196 y 203-208. En algunas modalidades, el polipéptido Fc comprende las
20 mutaciones de botón, LALA e YTE según se especifica para cualquiera de las SEQ ID NO:105-108, y tiene una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a la secuencia respectiva; o comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:105-108. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado comprende cualquiera de las SEQ ID NO:101-104, 143-148, 155-160, 167-172, 179-184, 191-196 y 203-208, y el
25 polipéptido Fc comprende cualquiera de las SEQ ID NO:105-108. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido Fc modificado y/o el polipéptido Fc incluye una parte de una región bisagra de IgG1 (por ejemplo, DKTHTCPPCP; SEQ ID NO:109).

[0325] En algunas modalidades, un polipéptido de progranulina presente en una proteína de fusión descrita en la presente está unido a una cadena de polipéptidos que comprende
30 un polipéptido Fc que tiene una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a cualquiera de las SEQ ID NO:97-100, o comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:97-100 (por ejemplo, como un polipéptido de fusión). En algunas modalidades, el polipéptido de progranulina está unido al polipéptido Fc a través de un enlazador, tal como un enlazador flexible, y/o una región bisagra o parte de esta (por

ejemplo, DKTHTCPPCP; SEQ ID NO:109). En algunas modalidades, la proteína de fusión comprende un polipéptido Fc modificado que tiene una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a cualquiera de las SEQ ID NO:93-96, 136, 137-142, 149-154, 161-166, 173-178, 185-190 Y 197-202, o comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:93-96, 136, 137-142, 149-154, 161-166, 173-178, 185-190 y 197-202. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido Fc y/o el polipéptido Fc modificado incluye una parte de una región bisagra de IgG1 (por ejemplo, DKTHTCPPCP; SEQ ID NO:109). En algunas modalidades, el polipéptido de progranulina comprende una secuencia con una identidad mayor que 90 % o de al menos 95 % con respecto a la SEQ ID NO:212, o comprende la secuencia de la SEQ ID NO:212. En algunas modalidades, el polipéptido Fc modificado tiene una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a cualquiera de las SEQ ID NO:110, 209 y 210, o comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:110, 209 y 210.

[0326] En algunas modalidades, un polipéptido de progranulina presente en una proteína de fusión descrita en la presente está unido a una cadena de polipéptidos que comprende un polipéptido Fc que tiene una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a cualquiera de las SEQ ID NO:105-108, o comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:105-108 (por ejemplo, como un polipéptido de fusión). En algunas modalidades, el polipéptido de progranulina está unido al polipéptido Fc a través de un enlazador, tal como un enlazador flexible, y/o una región bisagra o parte de esta (por ejemplo, DKTHTCPPCP; SEQ ID NO:109). En algunas modalidades, el polipéptido de progranulina comprende una secuencia con una identidad mayor que 90 % o de al menos 95 % con respecto a la SEQ ID NO:212, o comprende la secuencia de la SEQ ID NO:212. En algunas modalidades, la proteína de fusión comprende un polipéptido Fc modificado que tiene una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a cualquiera de las SEQ ID NO:101-104, 143-148, 155-160, 167-172, 179-184, 191-196 y 203-208, o comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:101-104, 143-148, 155-160, 167-172, 179-184, 191-196 y 203-208. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido Fc y/o el polipéptido Fc modificado incluye una parte de una región bisagra de IgG1 (por ejemplo, DKTHTCPPCP; SEQ ID NO:109).

[0327] En algunas modalidades, un polipéptido de progranulina presente en una proteína de fusión descrita en la presente está unido a una cadena de polipéptidos que comprende un polipéptido Fc modificado con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a cualquiera de las SEQ ID NO:93-96, 136, 137-142, 149-154,

- 161-166, 173-178, 185-190 y 197-202, o comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:93-96, 136, 137-142, 149-154, 161-166, 173-178, 185-190 y 197-202 (por ejemplo, como un polipéptido de fusión). En algunas modalidades, el polipéptido de progranulina está unido al polipéptido Fc modificado a través de un enlazador, tal como un enlazador flexible, y/o una región bisagra o parte de esta (por ejemplo, DKTHTCPPCP; SEQ ID NO:109). En algunas modalidades, el polipéptido de progranulina comprende una secuencia con una identidad mayor que 90 % o de al menos 95 % con respecto a la SEQ ID NO:212, o comprende la secuencia de la SEQ ID NO:212. En algunas modalidades, la proteína de fusión comprende un polipéptido Fc con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a cualquiera de las SEQ ID NO:97-100, 149 y 150, o comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:97-100, 149 y 150. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido Fc modificado y/o el polipéptido Fc incluye una parte de una región bisagra de IgG1 (por ejemplo, DKTHTCPPCP; SEQ ID NO:109).
- 15 **[0328]** En algunas modalidades, un polipéptido de progranulina presente en una proteína de fusión descrita en la presente está unido a una cadena de polipéptidos que comprende un polipéptido Fc modificado con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a cualquiera de las SEQ ID NO:101-104, 143-148, 155-160, 167-172, 179-184, 191-196 y 203-208, o comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:101-104, 143-148, 155-160, 167-172, 179-184, 191-196 y 203-208 (por ejemplo, como un polipéptido de fusión). En algunas modalidades, el polipéptido de progranulina está unido al polipéptido Fc modificado a través de un enlazador, tal como un enlazador flexible, y/o una región bisagra o parte de esta (por ejemplo, DKTHTCPPCP; SEQ ID NO:109). En algunas modalidades, el polipéptido de progranulina comprende una secuencia con una identidad mayor que 90 % o de al menos 95 % con respecto a la SEQ ID NO:212, o comprende la secuencia de la SEQ ID NO:212. En algunas modalidades, la proteína de fusión comprende un polipéptido Fc con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % con respecto a cualquiera de las SEQ ID NO:105-108, o comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:105-108. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido Fc modificado y/o el polipéptido Fc incluye una parte de una región bisagra de IgG1 (por ejemplo, DKTHTCPPCP; SEQ ID NO:109).

Proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN

- [0329]** En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a)

un primer polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico (por ejemplo, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) o GGGGS (SEQ ID NO:277)), donde el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende la mutación de botón de T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, el extremo C del polipéptido de progranulina está unido al extremo N del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido de progranulina está unido al extremo C del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el primer y/o segundo polipéptido Fc pueden unirse además a una región bisagra de IgG1 o una parte de esta (por ejemplo, SEQ ID NO: 91 o 109). En algunas modalidades, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:213, 214, 225 o 226, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:261.

[0330] En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a) un primer polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico (por ejemplo, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) o GGGGS (SEQ ID NO:277)), donde el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las mutaciones L234A y L235A (LALA), de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende la mutación de botón de T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, el extremo C del polipéptido de progranulina está unido al extremo N del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido de progranulina está unido al extremo C del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el primer y/o segundo polipéptido Fc pueden unirse además a una región bisagra de IgG1 o una parte de esta (por ejemplo, SEQ ID NO: 91 o 109). En algunas modalidades, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:215, 216, 227 o 228, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:261.

[0331] En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a)

un primer polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico (por ejemplo, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) o GGGGS (SEQ ID NO:277)), donde el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las mutaciones L234A, L235A y P329G (LALAPG), de acuerdo con el

5 esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende la mutación de botón de T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, el extremo C del polipéptido de progranulina está unido al extremo N del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas

10 modalidades, el extremo N del polipéptido de progranulina está unido al extremo C del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el primer y/o segundo polipéptido Fc pueden unirse además a una región bisagra de IgG1 o una parte de esta (por ejemplo, SEQ ID NO: 91 o 109). En algunas modalidades, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:217, 218, 229

15 o 230, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:261.

[0332] En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a) un primer polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico (por ejemplo, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) o GGGGS (SEQ ID NO:277)), donde el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las mutaciones M428L y N434S (LS), de acuerdo con el esquema de

20 numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende la mutación de botón de T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, el extremo C del polipéptido de progranulina está unido al extremo N del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el

25 extremo N del polipéptido de progranulina está unido al extremo C del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el primer y/o segundo polipéptido Fc pueden unirse además a una región bisagra de IgG1 o una parte de esta (por ejemplo, SEQ ID NO: 91 o 109). En algunas modalidades, (a)

30 comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:219, 220, 231 o 232, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:261.

[0333] En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a)

un primer polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico (por ejemplo, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) o GGGGS (SEQ ID NO:277)), donde el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, las mutaciones L234A y L235A (LALA) y las mutaciones M428L y N434S (LS), de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende la mutación de botón de T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, el extremo C del polipéptido de progranulina está unido al extremo N del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido de progranulina está unido al extremo C del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el primer y/o segundo polipéptido Fc pueden unirse además a una región bisagra de IgG1 o una parte de esta (por ejemplo, SEQ ID NO: 91 o 109). En algunas modalidades, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:221, 222, 233 o 234, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:261.

[0334] En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a) un primer polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico (por ejemplo, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) o GGGGS (SEQ ID NO:277)), donde el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, las mutaciones L234A, L235A y P329G (LALAPG) y las mutaciones M428L y N434S (LS), de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende la mutación de botón de T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, el extremo C del polipéptido de progranulina está unido al extremo N del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido de progranulina está unido al extremo C del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el primer y/o segundo polipéptido Fc pueden unirse además a una región bisagra de IgG1 o una parte de esta (por ejemplo, SEQ ID NO: 91 o 109). En algunas modalidades, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:223, 224, 235 o 236, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la

SEQ ID NO:261.

[0335] En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a) un primer polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico (por ejemplo, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) o GGGGS (SEQ ID NO:277)), donde el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende la mutación de botón de T366W y las mutaciones L234A y L235A (LALA), de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, el extremo C del polipéptido de progranulina está unido al extremo N del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido de progranulina está unido al extremo C del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el primer y/o segundo polipéptido Fc pueden unirse además a una región bisagra de IgG1 o una parte de esta (por ejemplo, SEQ ID NO: 91 o 109). En algunas modalidades, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:213, 214, 225 o 226, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:262.

[0336] En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a) un primer polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico (por ejemplo, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) o GGGGS (SEQ ID NO:277)), donde el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende la mutación de botón de T366W y las mutaciones L234A, L235A y P329G (LALAPG), de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, el extremo C del polipéptido de progranulina está unido al extremo N del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido de progranulina está unido al extremo C del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el primer y/o segundo polipéptido Fc pueden unirse además a una región bisagra de IgG1 o una parte de esta (por ejemplo, SEQ ID NO: 91 o 109). En algunas modalidades, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:213, 214, 225 o 226, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %,

al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:263.

[0337] En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a) un primer polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico (por ejemplo, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) o GGGGS (SEQ ID NO:277)), donde el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende la mutación de botón de T366W y las mutaciones M428L y N434S (LS), de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, el extremo C del polipéptido de progranulina está unido al extremo N del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido de progranulina está unido al extremo C del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el primer y/o segundo polipéptido Fc pueden unirse además a una región bisagra de IgG1 o una parte de esta (por ejemplo, SEQ ID NO: 91 o 109). En algunas modalidades, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:213, 214, 225 o 226, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:264.

[0338] En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a) un primer polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico (por ejemplo, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) o GGGGS (SEQ ID NO:277)), donde el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende la mutación de botón de T366W, las mutaciones L234A y L235A (LALA) y las mutaciones M428L y N434S (LS), de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, el extremo C del polipéptido de progranulina está unido al extremo N del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido de progranulina está unido al extremo C del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el primer y/o segundo polipéptido Fc pueden unirse además a una región bisagra de IgG1 o una parte de esta (por ejemplo, SEQ ID NO: 91 o 109). En algunas modalidades, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:213, 214, 225 o 226, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al

menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:265.

[0339] En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a) un primer polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico (por ejemplo, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) o GGGGS (SEQ ID NO:277)), donde el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende la mutación de botón de T366W, las mutaciones L234A, L235A y P329G (LALAPG) y las mutaciones M428L y N434S (LS), de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, el extremo C del polipéptido de progranulina está unido al extremo N del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido de progranulina está unido al extremo C del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el primer y/o segundo polipéptido Fc pueden unirse además a una región bisagra de IgG1 o una parte de esta (por ejemplo, SEQ ID NO: 91 o 109). En algunas modalidades, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:213, 214, 225 o 226, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:266.

[0340] En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a) un primer polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico (por ejemplo, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) o GGGGS (SEQ ID NO:277)), donde el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las mutaciones L234A y L235A (LALA), de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende la mutación de botón de T366W y las mutaciones L234A y L235A (LALA), de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, el extremo C del polipéptido de progranulina está unido al extremo N del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido de progranulina está unido al extremo C del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el primer y/o segundo polipéptido Fc pueden unirse además a una región bisagra de IgG1 o una parte de esta (por ejemplo, SEQ ID NO: 91 o 109). En algunas modalidades, (a) comprende una secuencia con una identidad de al

menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:215, 216, 227 o 228, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:262. En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a) una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:215, y (b) una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:210. En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a) una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:227, y (b) una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:210. En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a) una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:215, y (b) una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:291. En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a) una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:227, y (b) una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:291.

[0341] En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a) un primer polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico (por ejemplo, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) o GGGGS (SEQ ID NO:277)), donde el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las mutaciones L234A, L235A y P329G (LALAPG), de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende la mutación de botón de T366W y las mutaciones L234A, L235A y P329G (LALAPG), de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, el extremo C del polipéptido de progranulina está unido al extremo N del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido de progranulina está unido al extremo C del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el primer y/o segundo polipéptido Fc pueden unirse además a una región bisagra de IgG1 o una parte de esta (por ejemplo, SEQ ID NO: 91 o 109). En algunas modalidades, (a) comprende una secuencia con una

identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:217, 218, 229 o 230, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:263.

- 5 **[0342]** En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a) un primer polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico (por ejemplo, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) o GGGGS (SEQ ID NO:277)), donde el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las mutaciones M428L y N434S (LS), de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende la mutación de botón de T366W y las mutaciones M428L y N434S (LS), de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, el extremo C del polipéptido de progranulina está unido al extremo N del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido de progranulina está unido al extremo C del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el primer y/o segundo polipéptido Fc pueden unirse además a una región bisagra de IgG1 o una parte de esta (por ejemplo, SEQ ID NO: 91 o 109). En algunas modalidades, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:219, 220, 231 o 232, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:264.

- 25 **[0343]** En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a) un primer polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico (por ejemplo, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) o GGGGS (SEQ ID NO:277)), donde el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las mutaciones L234A y L235A (LALA), de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende la mutación de botón de T366W y las mutaciones M428L y N434S (LS), de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, el extremo C del polipéptido de progranulina está unido al extremo N del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido de progranulina está unido al extremo C del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el primer y/o segundo polipéptido Fc pueden unirse

además a una región bisagra de IgG1 o una parte de esta (por ejemplo, SEQ ID NO: 91 o 109). En algunas modalidades, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:215, 216, 227 o 228, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:264.

[0344] En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a) un primer polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico (por ejemplo, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) o GGGGS (SEQ ID NO:277)), donde el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las mutaciones L234A, L235A y P329G (LALAPG), de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende la mutación de botón de T366W y las mutaciones M428L y N434S (LS), de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, el extremo C del polipéptido de progranulina está unido al extremo N del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido de progranulina está unido al extremo C del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el primer y/o segundo polipéptido Fc pueden unirse además a una región bisagra de IgG1 o una parte de esta (por ejemplo, SEQ ID NO: 91 o 109). En algunas modalidades, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:217, 218, 229 o 230, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:264.

[0345] En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a) un primer polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico (por ejemplo, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) o GGGGS (SEQ ID NO:277)), donde el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las mutaciones M428L y N434S (LS), de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende la mutación de botón de T366W y las mutaciones L234A y L235A (LALA), de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, el extremo C del polipéptido de progranulina está unido al extremo N del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido de progranulina está

unido al extremo C del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el primer y/o segundo polipéptido Fc pueden unirse además a una región bisagra de IgG1 o una parte de esta (por ejemplo, SEQ ID NO: 91 o 109). En algunas modalidades, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:219, 220, 231 o 232, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:262.

[0346] En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a)

un primer polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico (por ejemplo, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) o GGGGS (SEQ ID NO:277)), donde el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y las mutaciones M428L y N434S (LS), de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende la mutación de botón de T366W y las mutaciones L234A, L235A y P329G (LALAPG), de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, el extremo C del polipéptido de progranulina está unido al extremo N del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido de progranulina está unido al extremo C del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el primer y/o segundo polipéptido Fc pueden unirse además a una región bisagra de IgG1 o una parte de esta (por ejemplo, SEQ ID NO: 91 o 109). En algunas modalidades, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:219, 220, 231 o 232, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:263.

[0347] En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a)

un primer polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico (por ejemplo, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) o GGGGS (SEQ ID NO:277)), donde el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, las mutaciones L234A y L235A (LALA) y las mutaciones M428L y N434S (LS), de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende la mutación de botón de T366W, las mutaciones L234A y L235A (LALA), y las mutaciones M428L y N434S (LS), de acuerdo con el esquema de numeración EU. En

algunas modalidades, el extremo C del polipéptido de progranulina está unido al extremo N del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido de progranulina está unido al extremo C del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el primer y/o segundo polipéptido Fc pueden unirse además a una región bisagra de IgG1 o una parte de esta (por ejemplo, SEQ ID NO: 91 o 109). En algunas modalidades, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:221, 222, 233 o 234, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:265.

[0348] En una modalidad, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a) un primer polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico (por ejemplo, GGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) o GGGGS (SEQ ID NO:277)), donde el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, las mutaciones L234A, L235A y P329G (LALAPG) y las mutaciones M428L y N434S (LS), de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende la mutación de botón de T366W, las mutaciones L234A, L235A y P329G (LALAPG), y las mutaciones M428L y N434S (LS), de acuerdo con el esquema de numeración EU. En algunas modalidades, el extremo C del polipéptido de progranulina está unido al extremo N del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido de progranulina está unido al extremo C del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el primer y/o segundo polipéptido Fc pueden unirse además a una región bisagra de IgG1 o una parte de esta (por ejemplo, SEQ ID NO: 91 o 109). En algunas modalidades, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:223, 224, 235 o 236, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:266.

[0349] En cualquiera de las modalidades descritas anteriormente, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN puede comprender un primer polipéptido Fc con la mutación de botón T366W y el segundo polipéptido Fc con las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, donde el primer polipéptido Fc está unido a un polipéptido de progranulina de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico.

[0350] En cualquiera de las modalidades descritas anteriormente, un polipéptido de progranulina también puede estar unido al segundo polipéptido de Fc, mediante lo cual crea una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN que comprende dos polipéptidos de progranulina. Por ejemplo, el extremo C del primer y segundo polipéptidos de progranulina puede estar unido al extremo N del primer y segundo polipéptidos Fc, respectivamente, de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En otro ejemplo, el extremo N del primer y segundo polipéptidos de progranulina puede estar unido al extremo C del primer y segundo polipéptidos Fc, respectivamente, de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En otro ejemplo, el extremo C del primer polipéptido de progranulina puede estar unido al extremo N del primer polipéptido Fc, y el extremo N del segundo polipéptido de progranulina puede estar unido al extremo C del segundo polipéptido Fc. En otro ejemplo, el extremo N del primer polipéptido de progranulina puede estar unido al extremo C del primer polipéptido Fc, y el extremo C del segundo polipéptido de progranulina puede estar unido al extremo N del segundo polipéptido Fc. En algunas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN que comprende dos polipéptidos de progranulina, donde cada uno de los dos polipéptidos de progranulina se une a un polipéptido Fc a través de un enlazador polipeptídico, los dos enlazadores polipeptídicos de la proteína de fusión pueden ser iguales o distintos. Por ejemplo, cada uno de los dos enlazadores polipeptídicos puede ser independientemente un enlazador Gly₄-Ser (SEQ ID NO:277) o un enlazador (Gly₄-Ser)₂ (SEQ ID NO:276).

[0351] En cualquiera de las modalidades descritas anteriormente, el primer polipéptido Fc o el segundo polipéptido Fc pueden comprender mutaciones de unión a TfR. En algunas modalidades, el primer polipéptido Fc puede comprender mutaciones de unión a TfR. El primer polipéptido Fc puede comprender una secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NO:101, 102, 143-145, 155-157, 167-169, 179-181, 191-193 y 203-205. En algunas modalidades, el segundo polipéptido Fc puede comprender mutaciones de unión a TfR. El segundo polipéptido Fc puede comprender una secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NO:93, 94, 136-139, 149-151, 161-163, 173-175, 185-187 y 197-199. En algunas modalidades, tanto el primer como el segundo polipéptido Fc pueden comprender mutaciones de unión a TfR.

[0352] En modalidades particulares, una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende: (a) un primer polipéptido Fc unido a un polipéptido de progranulina de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico (por ejemplo, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) o GGGGS (SEQ ID NO:277)), donde el primer polipéptido Fc comprende las

mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende la mutación de botón de T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y mutaciones de unión a TfR. En algunas modalidades, el extremo C del polipéptido de progranulina está unido al extremo N del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el extremo N del polipéptido de progranulina está unido al extremo C del primer polipéptido Fc de forma directa o a través de un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el primer y/o segundo polipéptido Fc pueden unirse además a una región bisagra de IgG1 o una parte de esta (por ejemplo, SEQ ID NO: 91 o 109). En algunas modalidades, el primer y/o segundo polipéptido Fc pueden comprender L234A y L235A con o sin mutaciones de P329G, y/o mutaciones M428L y N434S (LS).

[0353] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:213, 214, 225 o 226, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:281.

[0354] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:215, 216, 227 o 228, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:281.

[0355] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:217, 218, 229 o 230, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:281.

[0356] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:219, 220, 231 o 232, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:281.

[0357] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:221, 222, 233 o 234, y

(b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:281.

[0358] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,

(a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:223, 224, 235 o 236, y

(b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:281.

[0359] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,

(a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:213, 214, 225 o 226, y

(b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:210.

[0360] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,

(a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:213, 214, 225 o 226, y

(b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:282.

[0361] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,

(a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:213, 214, 225 o 226, y

(b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:283.

[0362] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,

(a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:213, 214, 225 o 226, y

(b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:284.

[0363] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,

(a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:213, 214, 225 o 226, y

(b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:285.

[0364] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,

(a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al

menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:215, 216, 227 o 228, y
(b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al
menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:210.

[0365] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,

- 5 (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al
menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:217, 218, 229 o 230, y
(b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al
menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:282.

[0366] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,

- 10 (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al
menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:219, 220, 231 o 232, y
(b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al
menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:283.

[0367] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,

- 15 (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al
menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:215, 216, 227 o 228, y
(b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al
menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:283.

[0368] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,

- 20 (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al
menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:217, 218, 229 o 230, y
(b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al
menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:283.

[0369] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,

- 25 (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al
menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:219, 220, 231 o 232, y
(b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al
menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:210.

[0370] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,

- 30 (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al
menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:219, 220, 231 o 232, y
(b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al
menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:282.

[0371] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,

- (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:221, 222, 233 o 234, y
- (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:284.
- 5 **[0372]** En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,
- (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:223, 224, 235 o 236, y
- (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:285.
- 10 **[0373]** En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,
- (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:213, 214, 225 o 226, y
- (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:286.
- 15 **[0374]** En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,
- (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:215, 216, 227 o 228, y
- (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:286.
- 20 **[0375]** En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,
- (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:217, 218, 229 o 230, y
- (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:286.
- 25 **[0376]** En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,
- (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:219, 220, 231 o 232, y
- (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:286.
- 30 **[0377]** En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,
- (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:221, 222, 233 o 234, y
- (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:286.

[0378] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:223, 224, 235 o 236, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:286.

[0379] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:213, 214, 225 o 226, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:209.

[0380] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:213, 214, 225 o 226, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:287.

[0381] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:213, 214, 225 o 226, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:288.

[0382] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:213, 214, 225 o 226, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:289.

[0383] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:213, 214, 225 o 226, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:290.

[0384] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:213, 214, 225 o 226, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al

menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:291.

[0385] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:215, 216, 227 o 228, y

5 (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:209.

[0386] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:217, 218, 229 o 230, y

10 (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:287.

[0387] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:219, 220, 231 o 232, y

15 (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:288.

[0388] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:215, 216, 227 o 228, y

20 (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:288.

[0389] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:217, 218, 229 o 230, y

25 (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:288.

[0390] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:219, 220, 231 o 232, y

30 (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:209.

[0391] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN, (a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:219, 220, 231 o 232, y

(b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:287.

[0392] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,

(a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:221, 222, 233 o 234, y

(b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:289.

[0393] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,

(a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:223, 224, 235 o 236, y

(b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:290.

[0394] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,

(a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:223, 224, 235 o 236, y

(b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:291.

[0395] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,

(a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:215, y (b) comprende

una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:210.

[0396] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,

(a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:227, y (b) comprende

una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:210.

[0397] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,

(a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:215, y (b) comprende

una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:291.

[0398] En determinadas modalidades de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN,

(a) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al

menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:227, y (b) comprende una secuencia con una identidad de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 % con respecto a la secuencia de la SEQ ID NO:291.

[0399] En cualquiera de las modalidades descritas anteriormente, puede retirarse la bisagra parcial (DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:109)) y/o el enlazador con alto contenido de glicina presente en la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:209, 210, 213-275 y 281-291. En determinadas modalidades, la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende una secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NO:209, 210, 213-275 y 281-291 sin la bisagra parcial y/o el enlazador con alto contenido de glicina. En otras modalidades, la bisagra parcial presente en la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:209, 210, 213-275 y 281-291 puede reemplazarse con una secuencia de bisagra completa (por ejemplo, EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:91)). En cualquiera de las modalidades descritas anteriormente, puede retirarse la bisagra parcial (DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:109)) y/o el enlazador con alto contenido de glicina presente en la secuencia de la SEQ ID NO:215 o 227. En determinadas modalidades, la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN comprende una secuencia de las SEQ ID NO:215 o 227 sin la bisagra parcial y/o el enlazador con alto contenido de glicina. En otras modalidades, la bisagra parcial presente en la secuencia de las SEQ ID NO:215 y 227 puede reemplazarse con una secuencia de bisagra completa (por ejemplo, EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:91)).

IX. PROPIEDADES DE UNIÓN

[0400] Las proteínas de fusión descritas en la presente pueden tener una amplia gama de afinidades de unión. Por ejemplo, en algunas modalidades, una proteína tiene una afinidad para un receptor de la barrera hematoencefálica (BBB), por ejemplo, receptor de transferrina (TfR), dentro del intervalo de 1 pM a 10 μ M. En algunas modalidades, la afinidad para TfR se encuentra en el intervalo de 1 nM a 5 μ M, o de 10 nM a 1 μ M.

[0401] Se conocen en la técnica métodos para analizar la afinidad de unión, la cinética de unión y la reactividad cruzada para analizar la unión a un receptor de la BBB, por ejemplo, TfR. Estos métodos incluyen, de modo no taxativo, ensayos de unión de fase sólida (por ejemplo, ensayo ELISA), inmunoprecipitación, resonancia por plasmones superficiales (por ejemplo, Biacore™ (GE Healthcare, Piscataway, NJ)), ensayos de exclusión cinética (por ejemplo, KinExA®), citometría de flujo, clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS, por sus siglas en inglés), interferometría BioLayer (por

ejemplo, Octet® (FortéBio, Inc., Menlo Park, CA)) y análisis de transferencia Western. En algunas modalidades, se utiliza ELISA para determinar la afinidad de unión y/o la reactividad cruzada. Se conocen en la técnica los métodos para llevar a cabo ensayos ELISA y también se describen en la sección de Ejemplos que figura más adelante. En algunas modalidades, se utiliza resonancia de plasmones superficiales (SPR, por sus siglas en inglés) para determinar la afinidad de unión, la cinética de unión y/o la reactividad cruzada. En algunas modalidades, se utilizan ensayos de exclusión cinética para determinar la afinidad de unión, la cinética de unión y/o la reactividad cruzada. En algunas modalidades, se utilizan los ensayos de interferometría BioLayer para determinar la afinidad de unión, la cinética de unión y/o la reactividad cruzada.

X. UNIÓN ENTRE POLIPÉPTIDOS DE PROGRANULINA Y POLIPÉPTIDOS FC

[0402] En algunas modalidades, una proteína de fusión descrita en la presente comprende dos polipéptidos Fc descritos en la presente y uno o ambos polipéptidos Fc pueden comprender además una región bisagra parcial o completa. La región bisagra puede ser de cualquier isotipo o subclase de inmunoglobulina. Una bisagra de inmunoglobulina ilustrativa es una región bisagra IgG, tal como una región bisagra IgG1, por ejemplo, la secuencia de aminoácidos de bisagra de IgG1 humana EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:91) o una parte de esta (por ejemplo, DKTHTCPPCP; SEQ ID NO:109). En algunas modalidades, la región bisagra se encuentra en la región del extremo N del polipéptido Fc.

[0403] En algunas modalidades, puede retirarse la bisagra parcial (DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:109)) presente en la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:213-275. En otras modalidades, la bisagra parcial (DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:109)) presente en la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:213-275 puede reemplazarse con la bisagra completa (EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:91)). En algunas modalidades, puede retirarse la bisagra parcial (DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:109)) presente en la secuencia de las SEQ ID NO:215 o 227. En otras modalidades, la bisagra parcial (DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:109)) presente en la secuencia de las SEQ ID NO:215 o 227 puede reemplazarse con la bisagra completa (EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:91)).

[0404] En algunas modalidades, un polipéptido Fc se une al polipéptido de progranulina a través de un enlazador, por ejemplo, un enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el polipéptido Fc se une al polipéptido de progranulina a través de un enlace peptídico o a

través de un enlazador polipeptídico, por ejemplo, es un polipéptido de fusión. El enlazador polipeptídico puede configurarse de forma tal que permita la rotación del polipéptido de progranulina con respecto al polipéptido Fc al que está unido; y/o es resistente a la digestión por parte de proteasas. Los enlazadores polipeptídicos pueden contener aminoácidos naturales, aminoácidos no naturales o una combinación de estos. En algunas modalidades, el enlazador polipeptídico puede ser un enlazador flexible, por ejemplo, con aminoácidos tales como Gly, Asn, Ser, Thr, Ala y similares. Estos enlazadores se diseñan mediante el uso de parámetros conocidos y pueden tener cualquier longitud y contener cualquier cantidad de unidades de repetición de cualquier longitud (por ejemplo, unidades de repetición de los residuos Gly y Ser). Por ejemplo, el enlazador puede tener repeticiones, tales como dos, tres, cuatro, cinco o más repeticiones de Gly₄-Ser o un único Gly₄-Ser. En algunas modalidades, el enlazador polipeptídico puede incluir un sitio de escisión de proteasas, por ejemplo, que puede escindirse mediante una enzima presente en el sistema nervioso central.

[0405] En algunas modalidades, el polipéptido de progranulina se une al extremo N del polipéptido Fc, por ejemplo, mediante un enlazador Gly₄-Ser (SEQ ID NO:277) o un enlazador (Gly₄-Ser)₂ (SEQ ID NO:276). En algunas modalidades, el polipéptido Fc puede comprender una secuencia de bisagra o secuencia de bisagra parcial en el extremo N que se une al enlazador o se une directamente al polipéptido de progranulina.

[0406] En algunas modalidades, el polipéptido de progranulina se une al extremo C del polipéptido Fc, por ejemplo, mediante un enlazador Gly₄-Ser (SEQ ID NO:277) o un enlazador (Gly₄-Ser)₂ (SEQ ID NO:276). En algunas modalidades, el extremo C del polipéptido Fc está unido directamente al polipéptido de progranulina.

[0407] En algunas modalidades, el enlazador polipeptídico entre el polipéptido Fc y el polipéptido de progranulina puede tener 3-200 (por ejemplo, 3-180, 3-160, 3-140, 3-120, 3-100, 3-80, 3-60, 3-40, 3-20, 3-10, 3-5, 5-200, 10-200, 20-200, 40-200, 60-200, 80-200, 100-200, 120-200, 140-200, 160-200, 180-200, 3, 5, 7, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 o 200) aminoácidos. Se conocen en la técnica enlazadores polipeptídicos adecuados (por ejemplo, como se describe en Chen et ál. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 65(10):1357-1369, 2013), y estos incluyen, por ejemplo, enlazadores polipeptídicos que contienen residuos de aminoácidos flexibles tales como glicina y serina. En determinadas modalidades, un enlazador polipeptídico puede ser un enlazador de poliglicina, por ejemplo, (Gly)_n, en el que n es un número entero entre 1 y 10. En determinadas modalidades, un enlazador polipeptídico puede contener motivos, por

ejemplo, múltiples motivos o motivos de repetición, de $(GS)_n$, $(GGS)_n$, $(GGGGS (SEQ ID NO:277))_n$, $(GGSG (SEQ ID NO:304))_n$ o $(SGGG (SEQ ID NO:305))_n$, donde n es un número entero entre 1 y 10. En otras modalidades, un enlazador polipeptídico también puede contener aminoácidos que no sean glicina y serina, por ejemplo,

5 KESGSVSSEQLAQFRSLD (SEQ ID NO:306), EGKSSGSGSESKST (SEQ ID NO:307) y GSAGSAAGSGEF (SEQ ID NO:308). En otras modalidades, los enlazadores polipeptídicos también pueden ser enlazadores polipeptídicos rígidos. En algunas modalidades, los enlazadores polipeptídicos rígidos pueden adoptar una conformación α -helical, que puede estabilizarse mediante enlaces hidrógeno entre segmentos o puentes salinos entre

10 segmentos. Los ejemplos de enlazadores polipeptídicos rígidos incluyen, de modo no taxativo, $A(EAAAK)_nA$ (SEQ ID NO:309), donde n es un número entero entre 2 y 5, y $(XP)_n$, donde X es Ala, Lys o Glu, y n es un número entero entre 1 y 10, como se describe en Chen et ál. *Adv. Drug Deliv Rev.* 65(10):1357-1369, 2013.

[0408] En algunas modalidades, el polipéptido de progranulina está unido al polipéptido

15 Fc a través de un agente de reticulación químico. Estos conjugados pueden generarse mediante el uso de reactivos de reticulación químicos y protocolos conocidos. Por ejemplo, existe una gran cantidad de agentes de reticulación químicos conocidos por el experto en la técnica y estos son útiles para la reticulación del polipéptido con un agente de interés. Por ejemplo, los agentes de reticulación son reticuladores heterobifuncionales, que pueden

20 usarse para enlazar moléculas por etapas. Los reticuladores heterobifuncionales proporcionan la capacidad de diseñar métodos de acoplamiento más específicos para conjugar proteínas, mediante lo cual se reducen las apariciones de reacciones secundarias no deseadas tales como polímeros homoproteicos. Se conoce en la técnica una amplia gama de reticuladores heterobifuncionales, que incluyen N-hidroxisuccinimida (NHS) o su

25 análogo hidrosoluble N-hidroxisulfosuccinimida (sulfo-NHS), 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo (SMCC), éster de m-maleimidobenzoil-N-hidroxisuccinimida (MBS); (4-yodoacetil) aminobenzoato de N-succinimidilo (SIAB), 4-(p-maleimidofenil)butirato de succinimidilo (SMPB), clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC); 4-succinimidiloxycarbonil-a-metil-a-(2-

30 piridilditio)-tolueno (SMPT), 3-(2-piridilditio)propionato de N-succinimidilo (SPDP) y 6-[3-(2-piridilditio)propionato]hexanoato de succinimidilo (LC-SPDP). Los agentes de reticulación que tienen restos de N-hidroxisuccinimida pueden obtenerse como análogos de N-hidroxisulfosuccinimida, que generalmente son más solubles en agua. Además, estos agentes de reticulación que tienen puentes disulfuro dentro de la cadena de unión pueden

sintetizarse en cambio como los derivados de alquilo, para reducir la cantidad de escisión del enlazador *in vivo*. Además de los reticuladores heterobifuncionales, existe una cantidad de agentes de reticulación distintos que incluyen reticuladores homobifuncionales y fotorreactivos. El subcrato de disuccinimidilo (DSS), bismaleimidohehexani (BMH) y dimetilpimelimidato.2HCl (DMP) son ejemplos de agentes de reticulación homobifuncionales útiles, y bis-[B-(4-azidosalicilamido)etil]disulfuro (BASED) y N-succinimidil-6(4'-azido-2'-nitrofenilamino)hexanoato (SANPAH) son ejemplos de reticuladores fotorreactivos útiles.

10 XI. EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DE LAS PROTEÍNAS DE FUSIÓN

[0409] La actividad de las proteínas de fusión descritas en la presente que comprenden un polipéptido de progranulina o una variante de este puede evaluarse mediante el uso de diversos ensayos, que incluyen ensayos que miden la actividad *in vitro* o *in vivo*. Como se describe en los Ejemplos, la absorción celular de las proteínas de fusión descritas en la presente puede evaluarse mediante el uso de macrófagos derivados de médula ósea (BMDM) e inmunotinción con anticuerpos contra progranulina humana y Fc humana. La actividad de proteólisis de las células después de tratar a las células con las proteínas de fusión descritas en la presente puede medirse con el ensayo DQ-BSA descrito en el Ejemplo 4. Los efectos celulares provocados por la mutación de *GRN* (por ejemplo, mayor actividad de catepsina D y niveles elevados de ARNm de genes lisosomales tales como *Ctsl*, *Tmem106b* y *Psap*) pueden evaluarse nuevamente después de haber tratado a las células con las proteínas de fusión descritas en la presente (Ejemplos 6 y 7). Pueden usarse en estos ensayos sondas fluorgénicas y técnicas de qPCR. Finalmente, pueden determinarse las propiedades farmacocinéticas y la absorción en el cerebro de las proteínas de fusión descritas en la presente mediante el uso de ratones de tipo salvaje y/o transgénicos, como se muestra en los Ejemplos 9 y 10.

[0410] Para muestras celulares, el ensayo puede incluir alterar las células y abrir microvesículas. La alteración de las células puede lograrse mediante el uso de congelamiento/descongelamiento y/o sonicación. En algunas modalidades, se evalúa una muestra de tejido. Una muestra de tejido puede evaluarse mediante el uso de múltiples ciclos de congelamiento/descongelamiento, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o más, que se llevan a cabo antes de la etapa de sonicación para garantizar que se abran las microvesículas.

[0411] Las muestras que pueden evaluarse a través de los ensayos descritos en la

presente incluyen, por ejemplo, cerebro, hígado, riñón, pulmón, bazo, plasma, suero, líquido cefalorraquídeo (LCR) y orina. En algunas modalidades, pueden evaluarse las muestras de LCR de un paciente que recibe una proteína de fusión que comprende un polipéptido de progranulina o una variante de este como se describe en la presente.

5

XII. BIS(MONOACILGLICERO)FOSFATO (BMP)

[0412] Se proporcionan en la presente métodos para monitorear los niveles de progranulina (por ejemplo, en una muestra, en una célula, en un tejido y/o en un sujeto),
10 donde la determinación del nivel de progranulina comprende medir la abundancia del bis(monoacilglicero)fosfato (BMP) (por ejemplo, en la muestra, célula, tejido y/o sujeto).

[0413] En algunas modalidades de los métodos de la presente descripción, se mide la abundancia de una única especie de BMP. En algunas modalidades, se mide la abundancia de dos o más especies de BMP. En algunas modalidades, se mide la abundancia de al
15 menos dos, tres, cuatro, cinco o más de las especies de BMP de la Tabla 3. Cuando se mide la abundancia de dos o más especies de BMP, puede utilizarse cualquier combinación de especies distintas de BMP.

[0414] En algunas modalidades, puede sumarse la abundancia de más de una especie de BMP, y la abundancia total se compara con un valor de referencia. Por ejemplo, puede
20 sumarse la abundancia de cada una de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109,
25 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147 o más especies de BMP (por ejemplo, las especies de BMP enumeradas en la Tabla 3), y comparar después la abundancia total con un valor de referencia.

[0415] En algunos casos, una o más especies de BMP pueden expresarse de forma
30 diferencial (por ejemplo, más o menos abundantes) en un tipo de muestra en comparación con otra, tal como, por ejemplo, muestras de base celular (por ejemplo, células cultivadas) en comparación con muestras de base tisular o sanguínea. Por consiguiente, en algunas modalidades, la selección de la o las especies de BMP (es decir, para la medición de la abundancia) depende del tipo de muestra. En algunas modalidades, la o las especies de

BMP comprenden BMP(18:1_18:1), por ejemplo, cuando una muestra (por ejemplo, una muestra de ensayo y/o una muestra de referencia) es un macrófago derivado de médula ósea (BMDM). En otras modalidades, la o las especies de BMP comprenden BMP(22:6_22:6), por ejemplo, cuando una muestra comprende tejido (por ejemplo, tejido cerebral, tejido hepático) o plasma, orina o LCR.

[0416] En algunas modalidades, se usa un estándar interno de BMP (por ejemplo, BMP(14:0_14:0)) para medir la abundancia de una o más especies de BMP en una muestra y/o determinar un valor de referencia (por ejemplo, medir la abundancia de una o más especies de BMP en una muestra de referencia). Por ejemplo, puede agregarse una cantidad conocida del estándar interno de BMP a una muestra (por ejemplo, una muestra de ensayo y/o una muestra de referencia) para que funcione como punto de calibración, de forma tal que se pueda determinar la cantidad de una o más especies de BMP presentes en la muestra. En algunas modalidades, un reactivo utilizado en la extracción o aislamiento de BMP de una muestra (por ejemplo, metanol) está “adicionado” con el estándar interno de BMP. Típicamente, el estándar interno de BMP es uno que no se produzca de forma natural en el sujeto.

XIII. IDENTIFICACIÓN DE SUJETOS QUE PADECEN O PRESENTAN RIESGO DE PADECER UN TRASTORNO ASOCIADO CON LA PROGRANULINA

[0417] En algunas modalidades, se determina que un sujeto (por ejemplo, un sujeto objetivo) padece un trastorno asociado con la progranulina o un nivel reducido de progranulina cuando la abundancia de al menos una (por ejemplo, al menos 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145 o más) especie de BMP (por ejemplo, las especies de BMP enumeradas en la Tabla 3) de una muestra de ensayo es mayor cuando la muestra de ensayo es un BMDM o menor cuando la muestra de ensayo es hígado, cerebro, líquido cefalorraquídeo, plasma u orina que un valor de referencia de una célula, tejido o fluido correspondiente de un control saludable o un control no relacionado con un trastorno asociado con la progranulina.

[0418] En algunas modalidades, se determina que un sujeto (por ejemplo, un sujeto objetivo) padece un trastorno asociado con la progranulina o un nivel reducido de progranulina cuando la abundancia de al menos una (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 o las 23) de las especies de BMP que se

seleccionan del grupo que consiste en BMP(16:0_18:1), BMP(16:0_18:2), BMP(18:0_18:0), BMP(18:0_18:1), BMP(18:1_18:1), BMP(16:0_20:3), BMP(18:1_20:2), BMP(18:0_20:4), BMP(16:0_22:5), BMP(20:4_20:4), BMP(22:6_22:6), BMP(20:4_20:5), BMP(18:2_18:2), BMP(16:0_20:4), BMP(18:0_18:2), BMP(18:0e_22:6), BMP(18:1e_20:4), BMP(20:4_22:6), BMP(18:0e_20:4), BMP(18:2_20:4), BMP(18:1_22:6), BMP(18:1_20:4), BMP(18:0_22:6), y BMP(18:3_22:5) es elevada en BMDM o baja en el hígado, cerebro, líquido cefalorraquídeo, plasma u orina en comparación con un valor de referencia de una célula, tejido o fluido correspondiente de un control saludable o un control no relacionado con un trastorno asociado con la progranulina.

- 10 **[0419]** En algunas modalidades, se determina que un sujeto (por ejemplo, un sujeto objetivo) padece un trastorno asociado con la progranulina o un nivel reducido de progranulina cuando la abundancia de al menos una (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 o las 8) de las especies de BMP que se seleccionan del grupo que consiste en BMP(18:1_18:1), BMP(18:0_20:4), BMP(20:4_20:4), BMP(22:6_22:6), BMP(20:4_22:6), BMP(18:1_22:6),
- 15 BMP(18:1_20:4), BMP(18:0_22:6) y BMP(18:3_22:5) es elevada en BMDM o baja en el hígado, cerebro, líquido cefalorraquídeo, plasma u orina en comparación con un valor de referencia de una célula, tejido o fluido correspondiente de un control saludable o un control no relacionado con un trastorno asociado con la progranulina.

- [0420]** En algunas modalidades, se determina que un sujeto padece un trastorno asociado con la progranulina o un nivel reducido de progranulina cuando los niveles de BMP(18:1_18:1) son elevados en BMDM en comparación con un valor de referencia de un control saludable o un control no relacionado con un trastorno asociado con la progranulina.
- 20 En otras modalidades, se determina que un sujeto padece un trastorno asociado con la progranulina o un nivel reducido de progranulina cuando los niveles de BMP(22:6_22:6) son reducidos en plasma, orina, líquido cefalorraquídeo (LCR) y/o tejido cerebral o hepático en comparación con un valor de referencia de un control saludable o un control no relacionado con un trastorno asociado con la progranulina. En otras modalidades, se determina que un sujeto padece un trastorno asociado con la progranulina o un nivel reducido de progranulina cuando los niveles de BMP(22:6_22:6) y/o BMP(18:3_22:5) son reducidos en el tejido
- 25 hepático. En otras modalidades, se determina que un sujeto padece un trastorno asociado con la progranulina o un nivel reducido de progranulina cuando los niveles de BMP(18:3_22:5) son reducidos en microglías.
- 30

[0421] En algunas modalidades, se determina que un sujeto (por ejemplo, un sujeto objetivo) padece un trastorno asociado con la progranulina o un nivel reducido de

progranulina cuando la abundancia de al menos una de las especies de BMP (por ejemplo, medida en una muestra de ensayo) es al menos alrededor de 1,1 veces (por ejemplo, alrededor de 1,1 veces, 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 5,5 veces, 6 veces, 6,5 veces, 7 veces, 7,5 veces, 8 veces, 8,5 veces, 9 veces, 9,5 veces, 10 veces o más) mayor en BMDM o menor en el hígado, cerebro, líquido cefalorraquídeo, plasma u orina en comparación con un valor de referencia de una célula, tejido o fluido correspondiente de un control saludable o un control no relacionado con un trastorno asociado con la progranulina.

[0422] En algunas modalidades, se determina que un sujeto (por ejemplo, un sujeto objetivo) padece un trastorno asociado con la progranulina o un nivel reducido de progranulina cuando la abundancia de al menos una de las especies de BMP (por ejemplo, medida en una muestra de ensayo) es al menos de alrededor de 1,2 veces a alrededor de 4 veces (por ejemplo, al menos alrededor de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 1,6 veces, 1,7 veces, 1,8 veces, 1,9 veces, 2 veces, 2,1 veces, 2,2 veces, 2,3 veces, 2,4 veces, 2,5 veces, 2,6 veces, 2,7 veces, 2,8 veces, 2,9 veces, 3 veces, 3,1 veces, 3,2 veces, 3,3 veces, 3,4 veces, 3,5 veces, 3,6 veces, 3,7 veces, 3,8 veces, 3,9 veces o 4 veces) mayor que un valor de referencia (por ejemplo, un valor de referencia correspondiente). En algunas modalidades, se determina que un sujeto padece un trastorno asociado con la progranulina o un nivel reducido de progranulina cuando la abundancia de al menos una de las especies de BMP es de alrededor de 2 veces a alrededor de 3 veces (por ejemplo, alrededor de 2 veces, 2,1 veces, 2,2 veces, 2,3 veces, 2,4 veces, 2,5 veces, 2,6 veces, 2,7 veces, 2,8 veces, 2,9 veces o 3 veces) mayor en BMDM o menor en el hígado, cerebro, líquido cefalorraquídeo, plasma u orina en comparación con un valor de referencia de una célula, tejido o fluido correspondiente de un control saludable o un control no relacionado con un trastorno asociado con la progranulina.

XIV. MONITOREO DE LAS RESPUESTAS AL TRATAMIENTO

[0423] En un aspecto, la presente descripción proporciona métodos para monitorear los niveles de progranulina en un sujeto (por ejemplo, un sujeto objetivo). En otros aspectos, se proporcionan métodos para monitorear la respuesta de un sujeto a un compuesto, composición farmacéutica, régimen de dosificación de este o respuesta a cualquier terapia o tratamiento (por ejemplo, respuesta a una proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN descrita en la presente) para el tratamiento de un trastorno asociado con la progranulina.

[0424] Típicamente, la abundancia de cada una de la o las especies de BMP en una muestra de ensayo se compara con uno o más valores de referencia (por ejemplo, un valor de referencia correspondiente). En algunas modalidades, un valor de BMP se mide antes del tratamiento y en uno o más puntos temporales después del tratamiento. El valor de abundancia tomado en un punto temporal posterior puede compararse con el valor previo al tratamiento, así como con un valor de control, tal como el de un control saludable o enfermo, para determinar cómo responde el sujeto a la terapia. El o los valores de referencia pueden ser de distintas células, tejidos o fluidos correspondientes a la célula, tejido o fluido de la muestra de ensayo.

10 **[0425]** En algunas modalidades, el valor de referencia es la abundancia de la o las especies de BMP que se mide en una muestra de referencia. El valor de referencia puede ser un valor de abundancia medido (por ejemplo, valor de abundancia medido en la muestra de referencia) o puede derivarse o extrapolarse a partir de un valor de abundancia medido. En algunas modalidades, el valor de referencia es un intervalo de valor, por ejemplo, cuando
15 los valores de referencia se obtienen de múltiples muestras o una población de sujetos. Además, el valor de referencia puede presentarse como un único valor (por ejemplo, un valor de abundancia medido, un valor promedio o la mediana de un valor) o un intervalo de valores, con o sin una desviación estándar o estándar de error.

[0426] Cuando se obtienen dos o más muestras de ensayo (por ejemplo, de un sujeto),
20 los puntos temporales a los cuales se obtienen pueden separarse alrededor de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60 o más minutos; alrededor de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 o más horas; alrededor de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 o más
25 días; alrededor de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más semanas; o incluso más. Cuando se obtienen tres o más muestras de ensayo, los intervalos temporales entre el momento en que se obtiene cada muestra de ensayo pueden ser todos iguales, pueden ser distintos, o una combinación de estos.

[0427] En algunas modalidades, tanto la primera muestra de ensayo como la segunda
30 muestra de ensayo se obtienen de un sujeto (por ejemplo, un sujeto objetivo) después de haber sido tratado, es decir, la primera muestra de ensayo se obtiene del sujeto en un punto temporal anterior durante el tratamiento que la segunda muestra de ensayo. En algunas modalidades, la primera muestra de ensayo se obtiene antes de haber tratado al sujeto para el trastorno asociado con un nivel reducido de progranulina (es decir, una muestra de

ensayo previa al tratamiento) y la segunda muestra de ensayo se obtiene después de haber tratado al sujeto para el trastorno asociado con un nivel reducido de progranulina (es decir, una muestra de ensayo después del tratamiento). En algunas modalidades, se obtiene del sujeto más de una (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más) muestra de ensayo previa o posterior al tratamiento. Además, no es necesario que la cantidad de muestras de ensayo previas y posteriores al tratamiento obtenidas sea la misma.

[0428] En algunas modalidades, puede determinarse que el sujeto no responde al tratamiento cuando la abundancia de la especie de BMP medida se encuentra a menos de alrededor de 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 7 %, 8 %, 9 %, 10 %, 11 %, 12 %, 13 %, 14 %, 15 %, 16 %, 17 %, 18 %, 19 % o 20 % del valor de referencia.

[0429] Cuando un sujeto (por ejemplo, un sujeto objetivo) no responde al tratamiento (por ejemplo, para un trastorno asociado con un nivel reducido de progranulina), en algunas modalidades, se altera (por ejemplo, aumenta) la dosificación de uno o más agentes terapéuticos (por ejemplo, progranulina) y/o se altera el intervalo de dosificación (por ejemplo, se reduce el tiempo entre las dosis). En algunas modalidades, cuando un sujeto no responde al tratamiento, se selecciona un agente terapéutico distinto. En algunas modalidades, cuando un sujeto no responde al tratamiento, se interrumpen uno o más agentes terapéuticos.

XV. TÉCNICAS DE DETECCIÓN DE BMP

[0430] En algunas modalidades, pueden utilizarse anticuerpos para detectar y/o medir la abundancia de una o más especies de BMP. Pueden detectarse las especies de BMP unidas al anticuerpo, tal como mediante microscopía o análisis de inmunoabsorción enzimática (ELISA).

[0431] En otras modalidades, se utiliza espectrometría de masa (MS) para detectar y/o medir la abundancia de una o más especies de BMP de acuerdo con métodos de la presente descripción. La espectrometría de masa es una técnica en la cual se ionizan los compuestos, y los iones resultantes se clasifican según su relación de masa con respecto a carga (abreviado m/Q , m/q , m/Z o m/z). Una muestra (por ejemplo, que comprende una molécula de BMP), que puede estar presente en forma gaseosa, líquida o sólida, se ioniza, y luego se aceleran los iones resultantes a través de un campo eléctrico y/o magnético, lo que provoca que se separen de acuerdo con sus relaciones de masa con respecto a carga. Los iones finalmente golpean un detector de iones y se genera un espectrograma de masas.

Las relaciones de masa con respecto a carga de los iones detectados, junto con su abundancia relativa, pueden usarse para identificar el o los compuestos originales, a veces al correlacionar masas conocidas (por ejemplo, de moléculas completas o intactas) con las masas de los iones detectados y/o mediante el reconocimiento de patrones que se detectan en el espectrograma de masas.

[0432] Los espectrómetros de masas típicamente incluyen al menos cuatro componentes principales: (1) un dispositivo de entrada de muestras (por ejemplo, un vaporizador), (2) un dispositivo de ionización, (3) una trayectoria de iones y (4) un detector de iones. Además, los espectrómetros de masas comprenden comúnmente un dispositivo que convierte muestras en una forma adecuada para el dispositivo de entrada y/o separa a los compuestos que están presentes dentro de la muestra, lo cual, en algunas modalidades, puede ser un dispositivo de cromatografía (por ejemplo, cromatografía líquida o gaseosa) o un objetivo sólido para desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI, por sus siglas en inglés) u otra técnica adecuada para muestras sólidas. Los espectrómetros de masas también comprenden comúnmente un dispositivo para el procesamiento de las señales del detector (por ejemplo, un conversor de analógico a digital (ADC, por sus siglas en inglés)) y/o software para el procesamiento, análisis y representación de las señales del detector.

[0433] El dispositivo de entrada de muestras facilita la transición de una muestra sólida o líquida a la fase gaseosa, que es necesaria para un procesamiento y análisis posteriores.

El dispositivo de ionización puede utilizar, por ejemplo, ionización dura (por ejemplo, ionización de electrones) o ionización blanda (por ejemplo, bombardeo atómico rápido (FAB, por sus siglas en inglés), ionización química (CI, por sus siglas en inglés), ionización por electroaspersión (ESI, por sus siglas en inglés), MALDI o ionización química a presión atmosférica (APCI, por sus siglas en inglés)). Los métodos de ESI comprenden hacer pasar una solución a través de una longitud de tubo capilar, al extremo del cual se aplica un potencial eléctrico negativo o positivo elevado. La solución que llega al extremo del tubo se vaporiza hasta formar un chorro o aspersión que comprende gotas muy pequeñas de solución en vapor de solvente. Esta aspersión de microgotas fluye a través de una cámara de evaporación que se calienta ligeramente para evitar la condensación y para evaporar el solvente. A medida que las microgotas se vuelven más pequeñas, la densidad de carga de la superficie eléctrica aumenta hasta que la repulsión natural entre cargas similares provoca la liberación de los iones y las moléculas neutras.

[0434] En la trayectoria iónica, los iones pasan de un entorno de presión casi atmosférica al entorno de presión baja (por ejemplo, alto vacío) del analizador de masas, lo que separa

los iones de acuerdo con su relación de masa con respecto a carga, y se mueven hacia el detector de iones. El detector de iones es comúnmente un multiplicador de electrones o una placa de microcanales que libera una cascada de electrones como respuesta al impacto de un ion.

- 5 **[0435]** Pueden utilizarse distintos tipos de analizadores de masas, ejemplos de los cuales incluyen analizadores de masa de campo sectoriales, analizadores de masa de tiempo de vuelo (TOF, por sus siglas en inglés) y analizadores de masa cuadrupolares. Los analizadores de masa de campo sectorial utilizan un campo eléctrico y/o magnético estático para modificar la trayectoria y/o velocidad de los iones, doblando efectivamente las trayectorias de los iones de acuerdo con su relación de masa con respecto a carga. Los iones con cargas mayores y/o masas menores se desvían más que los iones con cargas menores y/o masas mayores. Un analizador de masas de TOF utiliza un campo eléctrico para acelerar los iones a través de un potencial especificado, y se mide el tiempo que le lleva a un ion golpear al detector. Si todos los iones tienen la misma carga, sus velocidades diferirán solamente en función de sus masas, y los iones con masas menores golpearán al detector primero. Los analizadores de masas cuadrupolares emplean uno o más conjuntos de cuatro barras paralelas (un conjunto de cuatro barras paralelas conocido como cuadrupolo) para generar campos eléctricos oscilantes que estabilizan o desestabilizan los trayectos de los iones a medida que pasan a través de un campo cuadrupolar eléctrico (por ejemplo, un archivo cuadrupolar de radiofrecuencia (RF)) que se crea entre las cuatro barras. En particular, solamente se permite que los iones dentro de un intervalo específico de relaciones de masa con respecto a carga pasen a través del analizador de masas en un momento determinado. Sin embargo, al hacer variar los potenciales de las barras, es posible barrer rápidamente una amplia gama de relaciones de masa con respecto a carga.
- 25 Las relaciones de masa con respecto a carga pueden barrerse de forma continua o al especificar saltos separados.

- [0436]** A diferencia de la espectrometría de masas (MS) simple que utiliza un solo analizador de masas (por ejemplo, cuadrupolo), la espectrometría de masas en tándem (MS/MS) utiliza una serie de analizadores de masas (por ejemplo, tres analizadores de masas) para llevar a cabo múltiples rondas de espectrometría de masas, que típicamente tienen una etapa intermedia de fragmentación de moléculas. A modo de ejemplo no taxativo, los instrumentos de MS/MS emplean comúnmente tres analizadores de masas cuadrupolares. El primer cuadrupolo (Q1) puede actuar como un primer filtro de masas, que separa a una especie o proteína de interés de una población heterogénea de mayor tamaño.
- 30

El segundo cuadrupolo (Q2) puede actuar como cámara de colisión que estabiliza los iones que pasaron a través de Q1 y puede estar relleno con un gas de baja presión, con el cual impactan los iones, y esto provoca que se fragmenten (fragmentación inducida por colisión (CID, por sus siglas en inglés)). El tercer cuadrupolo (Q3) puede actuar como segundo filtro de masas que separa los fragmentos producidos en Q2 y los hace pasar hacia el detector. De manera alternativa, en vez de llevar a cabo una espectrometría de masas en tándem en el espacio, puede llevarse una espectrometría de masas en tándem en el tiempo mediante el uso de un analizador de masas individual, tal como cuando se utiliza una trampa de iones cuadrupolar y se hace variar el campo en el tiempo. En resumen, una trampa de iones cuadrupolar funciona en base a los mismos principios físicos que un analizador de masas cuadrupolar, pero los iones quedan atrapados dentro del cuadrupolo (es decir, el campo eléctrico cambia más rápido que el tiempo necesario para que los iones escapen) y se expulsan de manera selectiva en el tiempo al hacer variar el campo generado por el cuadrupolo.

[0437] Pueden usarse varios métodos para la fragmentación, que incluyen, de modo no taxativo, CID, disociación por captura de electrones (ECD, por sus siglas en inglés), disociación por transferencia de electrones (ETD, por sus siglas en inglés), disociación multifotónica por infrarrojos (IRMPD, por sus siglas en inglés), disociación por radiación infrarroja de cuerpos negros (BIRD, por sus siglas en inglés), disociación por desprendimiento de electrones (EDD, por sus siglas en inglés) y disociación inducida por la superficie (SID, por sus siglas en inglés).

[0438] Pueden usarse espectrómetros de masas en tándem para llevar a cabo distintos tipos de experimentos, que incluyen barridos completos, barridos de iones producto, barridos de iones precursores, barridos de pérdidas neutras y barridos de monitoreo de reacción selectiva (o múltiple) (SRM o MRM). En un experimento de barrido completo, se analiza el intervalo de masa completo (o una parte de este) de ambos analizadores de masas (por ejemplo, Q1 y Q3) y el segundo analizador de masas (por ejemplo, Q2) no contiene ningún gas de colisión. Esto permite la detección de todos los iones contenidos en una muestra. En un experimento de barrido de iones producto, se selecciona una relación de masa con respecto a carga específica para el primer analizador de masas (por ejemplo, Q1), el segundo analizador de masas (por ejemplo, Q2) se rellena con un gas de colisión para fragmentar los iones que tienen la relación de masa con respecto a carga seleccionada, y luego se analiza el intervalo de masas completo (o una parte de este) del tercer analizador de masas (por ejemplo, Q3). Esto permite la detección de todos los

fragmentos de iones de un precursor seleccionado. En un experimento de barrido de iones precursores, se analiza el intervalo de masas completo (o una parte de este) del primer analizador de masas (por ejemplo, Q1), el segundo analizador de masas (por ejemplo, Q2) se rellena con gas de colisión para fragmentar los iones que se encuentran dentro del intervalo de barrido, y se selecciona una relación de masa con respecto a carga específica para el tercer analizador de masas (por ejemplo, Q3). Al correlacionar el tiempo entre la detección de un ion producto y la relación de masa con respecto a carga particular que se seleccionó justo antes de su detección, este tipo de experimento puede permitir al usuario determinar qué iones precursores pueden haber generado el ion producto de interés. En un experimento de barrido de pérdida neutra, se explora el intervalo de masas completo (o una parte de este) del primer analizador de masas (por ejemplo, Q1), el segundo analizador de masas (por ejemplo, Q2) se rellena con gas de colisión para fragmentar todos los iones dentro del intervalo de exploración, y el tercer analizador de masas (por ejemplo, Q3) se analiza a lo largo de un intervalo específico que corresponde a la pérdida inducida por la fragmentación de una sola masa específica que se produjo para cada posible ion dentro del intervalo de barrido de precursores. Este tipo de experimento permite la identificación de todos los precursores que perdieron un grupo químico de interés en particular (por ejemplo, un grupo metilo) en común. En un experimento de MRM, se selecciona una relación de masa con respecto a carga específica para el primer analizador de masas (por ejemplo, Q1), el segundo analizador de masas (por ejemplo, Q2) se rellena con gas de colisión, y el tercer analizador de masas (por ejemplo, Q3) se fija para otra relación de masa con respecto a carga específica. Este tipo de experimento permite la detección muy específica de moléculas que se conoce que se fragmentan en los productos que se buscan en el tercer analizador de masas. Los métodos de MS y MS/MS se describen adicionalmente en Grebe et ál. *Clin. Biochem. Rev.* (2011) 32:5-31, que se incorpora a la presente mediante esta referencia en su totalidad a todos los efectos.

[0439] Además, las técnicas de MS y MS/MS pueden acoplarse con técnicas de cromatografía líquida (LC) o cromatografía de gases (GC). Estos métodos de cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC-MS), cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS), cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) y cromatografía de gases-espectrometría de masas en tándem (GC-MS/MS) permiten una mejor resolución de masas y una mejor determinación de masas en comparación con lo que es posible típicamente con MS o MS/MS solas.

[0440] La cromatografía líquida hace referencia a un proceso en el que uno o más

componentes de una solución de fluidos se retrasa de manera selectiva a medida que el fluido se filtra de manera uniforme a través de una columna de una sustancia dividida finamente, o a través de pasajes capilares. El retardo es resultado de la distribución de los componentes de la mezcla entre una o más fases estacionarias y el fluido a granel (es decir, fase móvil), a medida que el fluido se mueve en relación con la o las fases estacionarias. La cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC, por sus siglas en inglés), a veces denominada también “cromatografía líquida de presión elevada”, es una variante de LC en la que se aumenta el grado de separación al forzar la fase móvil bajo presión a través de una fase estacionaria, típicamente una columna muy compacta.

10 **[0441]** Además, la cromatografía líquida de rendimiento ultraelevado (UHPLC, por sus siglas en inglés), también conocida como “cromatografía líquida de presión ultraelevada” o “cromatografía líquida de rendimiento ultraelevado (UPLC, por sus siglas en inglés)”, es una variante de la HPLC que se lleva a cabo mediante el uso de presiones mucho mayores que las de las técnicas tradicionales de HPLC.

15 **[0442]** En algunas modalidades, el tamaño de las partículas de la columna es menor que alrededor de 2,0 μm (por ejemplo, alrededor de 1,9 μm , 1,8 μm , 1,7 μm , 1,6 μm , 1,5 μm o menor). En algunas modalidades, el tamaño de partícula es de alrededor de 1,7 μm .

[0443] En algunas modalidades, la presión de trabajo sobre la columna es de alrededor de 400 bar a alrededor de 1000 bar (por ejemplo, alrededor de 400, 450, 500, 550, 600, 20 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 o 1000 bar).

[0444] En algunas modalidades, durante la cromatografía, la temperatura de la columna se mantiene a una temperatura entre alrededor de 40 °C y alrededor de 60 °C (por ejemplo, alrededor de 40 °C, 41 °C, 42 °C, 43 °C, 44 °C, 45 °C, 46 °C, 47 °C, 48 °C, 49 °C, 50 °C, 25 51 °C, 52 °C, 53 °C, 54 °C, 55 °C, 56 °C, 57 °C, 58 °C, 59 °C o 60 °C). En algunas modalidades, la columna se mantiene a una temperatura de alrededor de 55 °C.

[0445] En algunas modalidades, la velocidad de flujo de la columna es de alrededor de 0,10 mL/minuto y alrededor de 0,50 mL/minuto (por ejemplo, alrededor de 0,10 mL/minuto, 0,11 mL/minuto, 0,12 mL/minuto, 0,13 mL/minuto, 0,14 mL/minuto, 0,15 mL/minuto, 0,16 mL/minuto, 0,17 mL/minuto, 0,18 mL/minuto, 0,19 mL/minuto, 0,20 mL/minuto, 0,21 mL/minuto, 0,22 mL/minuto, 0,23 mL/minuto, 0,24 mL/minuto, 0,25 mL/minuto, 0,26 30 mL/minuto, 0,27 mL/minuto, 0,28 mL/minuto, 0,29 mL/minuto, 0,30 mL/minuto, 0,31 mL/minuto, 0,32 mL/minuto, 0,33 mL/minuto, 0,34 mL/minuto, 0,35 mL/minuto, 0,36 mL/minuto, 0,37 mL/minuto, 0,38 mL/minuto, 0,39 mL/minuto, 0,40 mL/minuto, 0,41 mL/minuto, 0,42 mL/minuto, 0,43 mL/minuto, 0,44 mL/minuto, 0,45 mL/minuto, 0,46

mL/minuto, 0,47 mL/minuto, 0,48 mL/minuto, 0,49 mL/minuto o 0,50 mL/minuto). En algunas modalidades, el índice de flujo es de alrededor de 0,40 mL/minuto

[0446] La elución de gradiente puede realizarse mediante el uso de dos solventes (por ejemplo, solventes A y B). En algunas modalidades, el solvente A es formiato de amonio 10 mM + ácido fórmico al 0,1 % en agua y el solvente B es acetonitrilo con ácido fórmico al 0,1 %. En algunas modalidades, el gradiente se produce a través del siguiente método: 5 % de A y 95 % de B durante 1 minuto, se cambia a 50 % de A y 50 % de B durante 6 minutos, se cambia a 5 % de A y 95 % de B durante 0,1 minutos, luego se mantiene a 5 % de A y 95 % de B durante 4,9 minutos. Luego de separar los compuestos mediante LC, HPLC o UHPLC, pueden introducirse en el espectrómetro de masas.

[0447] La cromatografía de gases hace referencia a un método para separar y/o analizar compuestos que pueden vaporizarse sin descomponerse. La fase móvil es un gas portador que típicamente es un gas inerte (por ejemplo, helio) o un gas no reactivo (por ejemplo, nitrógeno), y la fase estacionaria es típicamente un líquido microscópico o capa polimérica colocada sobre un soporte sólido inerte dentro de un tubo de vidrio o metal que funciona como la "columna". A medida que los compuestos gaseosos de interés interactúan con la fase estacionaria dentro de la columna, se retrasan de forma diferenciada y se eluyen de la columna en momentos distintos. Los compuestos separados pueden introducirse luego en el espectrómetro de masas.

[0448] En algunas modalidades, se usan métodos a base de anticuerpos para detectar y/o medir la abundancia de una o más especies de BMP. Los ejemplos no taxativos de métodos adecuados incluyen técnicas de análisis de inmunoabsorción enzimática (ELISA), inmunofluorescencia y radioinmunoensayo (RIA). Se conocen en la técnica los métodos para llevar a cabo técnicas de ELISA, inmunofluorescencia y RIA.

[0449] Es posible utilizar cualquier cantidad de tipos de muestras como muestra de ensayo y/o muestra de referencia en métodos de la presente descripción, siempre y cuando la muestra comprenda BMP en una cantidad suficiente para detección, de forma tal que pueda medirse la abundancia. Los ejemplos no taxativos incluyen células, tejidos, sangre (por ejemplo, sangre entera, plasma, suero), fluidos (por ejemplo, líquido cefalorraquídeo, orina, líquido de lavado broncoalveolar, linfa, semen, leche materna, líquido amniótico), heces, esputo o cualquier combinación de estos. Los ejemplos no taxativos de tipos de células adecuadas incluyen macrófagos derivados de médula ósea (BMDM), células sanguíneas (por ejemplo, células mononucleares de sangre periférica (PBMC), eritrocitos, leucocitos), células neuronales (por ejemplo, células cerebrales, células de la corteza

cerebral, células de la médula espinal), células de la médula ósea, células hepáticas, células renales, células esplénicas, células pulmonares, células oculares (por ejemplo, células retinianas tales como células del epitelio pigmentario de la retina (RPE, por sus siglas en inglés)), células de vellosidad coriónica, células musculares, células cutáneas, fibroblastos, células cardíacas, células de nódulo linfático o una combinación de estas. En algunas modalidades, la muestra comprende una parte de una célula. En algunas modalidades, la muestra se purifica a partir de una célula o tejido. Los ejemplos no taxativos de muestras purificadas incluyen endosomas, lisosomas, vesículas extracelulares (por ejemplo, exosomas, microvesículas) y combinaciones de estos.

10 **[0450]** En algunas modalidades, la muestra (por ejemplo, muestra de ensayo y/o muestra de referencia) comprende una célula que es una célula cultivada. Los ejemplos no taxativos incluyen células de RPE y BMDM. Los BMDM pueden obtenerse, por ejemplo, al obtener una muestra que comprende PBMC y cultivar los monocitos contenidos en esta.

15 **[0451]** Los ejemplos no taxativos de tipos de muestras de tejido adecuadas incluyen tejido neuronal (por ejemplo, tejido cerebral, tejido de la corteza cerebral, tejido de la médula espinal), tejido hepático, tejido renal, tejido muscular, tejido cardíaco, tejido ocular (por ejemplo, tejido retiniano), nódulos linfáticos, médula espinal, tejido cutáneo, tejido de vasos sanguíneos, tejido pulmonar, tejido de bazo, tejido valvular o una combinación de estos. En algunas modalidades, una muestra de ensayo y/o una muestra de referencia comprende
20 tejido cerebral o tejido hepático. En algunas modalidades, una muestra de ensayo y/o referencia comprende plasma.

XVI. ÁCIDOS NUCLEICOS, VECTORES Y CÉLULAS HOSPEDADORAS

25 **[0452]** Las cadenas de polipéptidos contenidas en las proteínas de fusión descritas en la presente se preparan típicamente mediante el uso de métodos recombinantes. Por consiguiente, en algunos aspectos, la descripción proporciona ácidos nucleicos aislados que comprenden una secuencia de ácido nucleico que codifica cualquiera de las cadenas de polipéptidos que comprenden polipéptidos Fc descritos en la presente, y las células
30 hospedadoras en las cuales se introducen los ácidos nucleicos que se usan para replicar los ácidos nucleicos que codifican polipéptidos y/o para expresar los polipéptidos. En algunas modalidades, la célula hospedadora es eucariota, por ejemplo, una célula humana.

[0453] En otro aspecto, se proporcionan polinucleótidos que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica las cadenas de polipéptidos descritas en la presente. Los

polinucleótidos pueden ser de cadena simple o de cadena doble. En algunas modalidades, el polinucleótido es ADN. En modalidades particulares, el polinucleótido es ADNc. En algunas modalidades, el polinucleótido es ARN.

[0454] La descripción proporciona un ácido nucleico aislado que comprende una
5 secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO:110, 210, 213-215, 225, 227, 261, 273-275, 282, 284, 285 y 291.

[0455] La descripción proporciona un ácido nucleico aislado que comprende una
10 secuencia de ácido nucleico que codifican un polipéptido que tiene la secuencia de la SEQ ID NO:215.

[0456] La descripción proporciona un ácido nucleico aislado que comprende una
secuencia de ácido nucleico que codifican un polipéptido que tiene la secuencia de la SEQ ID NO:210.

[0457] La descripción proporciona un ácido nucleico aislado que comprende una
15 secuencia de ácido nucleico que codifican un polipéptido que tiene la secuencia de la SEQ ID NO:227.

[0458] La descripción proporciona un ácido nucleico aislado que comprende una
secuencia de ácido nucleico que codifican un polipéptido que tiene la secuencia de la SEQ ID NO:291.

[0459] La descripción proporciona ácidos nucleicos aislados que comprenden (a) una
20 secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido que tiene la secuencia de la SEQ ID NO:215 y (b) una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido que tiene la secuencia de la SEQ ID NO:210.

[0460] La descripción proporciona ácidos nucleicos aislados que comprenden (a) una
25 secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido que tiene la secuencia de la SEQ ID NO:227 y (b) una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido que tiene la secuencia de la SEQ ID NO:210.

[0461] La descripción proporciona ácidos nucleicos aislados que comprenden (a) una
30 secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido que tiene la secuencia de la SEQ ID NO:215 y (b) una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido que tiene la secuencia de la SEQ ID NO:291.

[0462] La descripción proporciona ácidos nucleicos aislados que comprenden (a) una
secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido que tiene la secuencia de la SEQ ID NO:227 y (b) una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido que tiene la

secuencia de la SEQ ID NO:291.

[0463] En algunas modalidades, el polinucleótido se incluye dentro de una construcción de ácido nucleico. En algunas modalidades, la construcción es un vector replicable. En algunas modalidades, el vector se selecciona de un plásmido, un vector viral, un fagémido, un vector cromosómico de levadura y un vector de mamífero no episomal.

[0464] En algunas modalidades, el polinucleótido se enlaza en forma operativa a una o más secuencias de nucleótidos reguladoras en una construcción de expresión. En una serie de modalidades, las construcciones de expresión de ácido nucleico se adaptan para su uso como biblioteca de expresión superficial. En algunas modalidades, la biblioteca se adapta para expresión superficial en levaduras. En algunas modalidades, la biblioteca se adapta para la expresión superficial en fagos. En otra serie de modalidades, las construcciones de expresión de ácidos nucleicos se adaptan para la expresión del polipéptido en un sistema que permita el aislamiento del polipéptido en cantidades de miligramos o gramos. En algunas modalidades, el sistema es un sistema de expresión de células de mamíferos. En algunas modalidades, el sistema es un sistema de expresión celular de levaduras.

[0465] Los vehículos de expresión para la producción de un polipéptido recombinante incluyen plásmidos y otros vectores. Por ejemplo, los vectores adecuados incluyen plásmidos de los siguientes tipos: plásmidos derivados de pBR322, plásmidos derivados de pEMBL, plásmidos derivados de pEX, plásmidos derivados de pBTac y plásmidos derivados de pUC para la expresión en células procariotas, tales como *E. coli*. Los vectores derivados de pcDNAI/amp, pcDNAI/neo, pRc/CMV, pSV2gpt, pSV2neo, pSV2-dhfr, pTk2, pRSVneo, pMSG, pSVT7, pko-neo y pHyg son ejemplos de vectores de expresión de mamíferos adecuados para la transfección de células eucariotas. De manera alternativa, se pueden usar derivados de virus tales como el virus del papiloma bovino (BPV-1) o el virus Epstein-Barr (derivados de pHEBo, pREP y p205) para la expresión transitoria de polipéptidos en células eucariotas. En algunas modalidades, puede ser deseable expresar el polipéptido recombinante con el uso de un sistema de expresión en baculovirus. Los ejemplos de tales sistemas de expresión en baculovirus incluyen vectores derivados de pVL (tales como pVL1392, pVL1393 y pVL941), vectores derivados de pAcUW (tales como pAcUW1) y vectores derivados de pBlueBac. Los sistemas de expresión adicionales incluyen adenovíricos, virus adenoasociados y otros sistemas de expresión viral.

[0466] Los vectores pueden transformarse en cualquier célula hospedadora adecuada. En algunas modalidades, las células hospedadoras, por ejemplo, células de bacterias o levaduras, se pueden adaptar para su uso como una biblioteca de expresión superficial. En

algunas células, los vectores se expresan en células hospedadoras para expresar cantidades relativamente grandes del polipéptido. Tales células hospedadoras incluyen células de mamífero, células de levaduras, células de insectos y células procariotas. En algunas modalidades, las células son células de mamífero, tales como células de ovario de hámster chino (CHO, por sus siglas en inglés), células de riñón de hámster bebé (BHK, por sus siglas en inglés), células NS0, células Y0, células HEK293, células COS, células Vero o células HeLa.

[0467] Es posible cultivar una célula hospedadora transfectada con un vector de expresión que codifica una o más cadenas de polipéptidos Fc descritas en la presente en condiciones adecuadas para permitir que se produzca la expresión del polipéptido. Los polipéptidos pueden secretarse y aislarse de una mezcla de células y medio que contiene los polipéptidos. De manera alternativa, los polipéptidos pueden retenerse en el citoplasma o en una fracción de membrana y pueden cosecharse y lisarse las células y el polipéptido aislado con un método deseado.

XVII. MÉTODOS TERAPÉUTICOS

[0468] Una proteína de fusión de acuerdo con la descripción puede usarse de forma terapéutica para el tratamiento de trastornos asociados con la progranulina (por ejemplo, una enfermedad neurodegenerativa (por ejemplo, FTD, NCL, NPA, NPB, NPC, ALS asociada con C9ORF72/FTD, ALS esporádica, AD, enfermedad de Gaucher (por ejemplo, enfermedad de Gaucher de tipo 2 y 3) y enfermedad de Parkinson), aterosclerosis, un trastorno asociado con TDP-43 y AMD).

[0469] Una proteína de fusión descrita en la presente que comprende un polipéptido de progranulina o una variante de este puede administrarse a un sujeto en una cantidad o dosis terapéuticamente eficaz. Pueden utilizarse dosificaciones ilustrativas que incluyen un intervalo de dosis de alrededor de 1 mg/kg a alrededor de 100 mg/kg o de alrededor de 10 mg/kg a alrededor de 50 mg/kg. Sin embargo, las dosificaciones pueden variar según diversos factores, que incluyen la frecuencia de la dosis, la vía de administración elegida, la formulación de la composición, la respuesta del paciente, la gravedad de la afección, el peso del sujeto y el criterio del médico tratante. La dosificación puede aumentar o disminuir con el tiempo, según sea necesario para un paciente individual. En algunas modalidades, se le administra a un paciente inicialmente una dosis baja, que luego se aumenta a una dosificación eficaz tolerable para el paciente.

[0470] En diversas modalidades, una proteína de fusión descrita en la presente se administra de forma parenteral. En algunas modalidades, la proteína se administra por vía intravenosa. La administración intravenosa puede ser por infusión, por ejemplo, durante el transcurso de alrededor de 10 a alrededor de 30 minutos, o durante el transcurso de al menos 1 hora, 2 horas o 3 horas. En algunas modalidades, la proteína se administra como bolo intravenoso. También pueden utilizarse combinaciones de administraciones por infusión y bolo.

[0471] En algunas modalidades parenterales, una proteína de fusión se administra por vía intraperitoneal, subcutánea, intradérmica o intramuscular. En algunas modalidades, la proteína se administra por vía intradérmica o intramuscular. En algunas modalidades, la proteína se administra por vía intratecal, tal como mediante administración epidural, o de forma intracerebroventricular.

[0472] En otras modalidades, una proteína de fusión puede administrarse por vía oral, mediante administración pulmonar, administración intranasal, administración intraocular o mediante administración tópica. También es posible utilizar la administración pulmonar, por ejemplo, mediante el uso de un inhalador o nebulizador y la formulación con un agente de aerosolización.

XVIII. COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS Y KITS

[0473] En otros aspectos, se proporcionan composiciones farmacéuticas y kits que comprenden una proteína de fusión de acuerdo con la descripción.

Composiciones farmacéuticas

[0474] Una orientación para la preparación de formulaciones para utilizar en la descripción puede hallarse en cualquier cantidad de manuales de preparaciones y formulaciones farmacéuticas que conocen los expertos en la técnica.

[0475] En algunas modalidades, una composición farmacéutica comprende una proteína de fusión descrita en la presente y comprende además uno o más portadores y/o excipientes farmacéuticamente aceptables. Un portador farmacéuticamente aceptable incluye cualquier solvente, medio de dispersión o recubrimiento que sea compatible fisiológicamente y que no interfiera con la actividad del agente activo ni la inhiba de otra forma.

[0476] En algunas modalidades, el portador es adecuado para administración

intravenosa, intratecal, intraocular, intracerebroventricular, intramuscular, oral, intraperitoneal, transdérmica, tópica o subcutánea. Los portadores farmacéuticamente aceptables pueden contener uno o más compuestos fisiológicamente aceptables que actúan, por ejemplo, para estabilizar la composición o para aumentar o disminuir la absorción del polipéptido. Los compuestos fisiológicamente aceptables pueden incluir, por ejemplo, carbohidratos, tales como glucosa, sacarosa o dextranos, antioxidantes, tales como ácido ascórbico o glutatona, agentes quelantes, proteínas de peso molecular bajo, composiciones que reducen la eliminación o hidrólisis de los agentes activos, o excipientes u otros estabilizadores y/o amortiguadores. Se encuentran disponibles en la técnica también otros portadores farmacéuticamente aceptables y sus formulaciones.

[0477] Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente pueden fabricarse, por ejemplo, mediante procesos de mezclado, disolución, granulado, fabricación de grageas, emulsificación, encapsulamiento, retención o liofilización convencionales. Los siguientes métodos y excipientes son ilustrativos.

[0478] Para la administración oral, puede formularse una proteína de fusión descrita en la presente al combinarla con portadores farmacéuticamente aceptables conocidos en la técnica. Estos portadores permiten que los compuestos (por ejemplo, proteínas de fusión descritas en la presente) se formulen como comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, emulsiones, suspensiones lipofílicas e hidrofílicas, líquidos, geles, jarabes, suspensiones y similares, para ingestión oral por parte de un paciente a tratar. Las preparaciones farmacéuticas para uso oral pueden obtenerse mediante la mezcla de las proteínas de fusión con un excipiente sólido, al moler opcionalmente una mezcla resultante y procesar la mezcla de gránulos, luego de agregar auxiliares adecuados, de así desearse, para obtener comprimidos o núcleos de grageas. Los excipientes adecuados incluyen, por ejemplo, rellenos tales como azúcares, que incluyen lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol; preparaciones de celulosa tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de papa, gelatina, goma tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio y/o polivinilpirrolidona. De así desearse, es posible agregar agentes desintegrantes, tales como polivinilpirrolidona reticulada, agar o ácido algínico o una sal de este, tal como alginato de sodio.

[0479] Como se describió anteriormente, una proteína de fusión descrita en la presente puede formularse para administración parenteral mediante inyección, por ejemplo, mediante inyección de bolo o infusión continua. Para la inyección, la proteína de fusión puede formularse en preparaciones al disolverla, suspenderla o emulsionarla en un solvente

acuoso o no acuoso, tal como aceites vegetales u otros similares, glicéridos de ácido alifático sintético, ésteres de ácidos alifáticos superiores o propilenglicol y, si se desea, con aditivos convencionales tales como solubilizantes, agentes isotónicos, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, estabilizantes y conservantes. En algunas modalidades, la proteína de fusión puede formularse en soluciones acuosas, tales como amortiguadores fisiológicamente compatibles, ejemplos no taxativos de los cuales incluyen solución de Hank, solución de Ringer y amortiguador salino fisiológico. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en formas de dosificación unitarias, por ejemplo, en ampollas o en recipientes de múltiples dosis, con un conservante agregado. Las composiciones pueden adoptar formas de suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o de dispersión.

[0480] En algunas modalidades, una proteína de fusión descrita en la presente se prepara administrarse en una formulación de liberación sostenida, de liberación controlada, de liberación extendida o de liberación retrasada, por ejemplo, en matrices semipermeables de polímeros hidrofóbicos que contienen el agente activo. Se han establecido varios tipos de materiales de liberación sostenida y son conocidos por los expertos en la técnica. Las formulaciones de liberación prolongada incluyen comprimidos con recubrimiento de película, sistemas multiparticulados o de gránulos, tecnologías de matriz que utilizan materiales hidrofílicos o lipofílicos y comprimidos a base de agua con excipientes que forman poros. Frecuentemente, las formulaciones de liberación sostenida pueden prepararse mediante el uso de polímeros naturales o sintéticos, por ejemplo, polivinilpirrolidonas poliméricas, tales como polivinilpirrolidona; polímeros hidrofílicos de carboxivinilo; hidrocoloides hidrofóbicos y/o hidrofílicos, tales como metilcelulosa, etilcelulosa, hidroxipropilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa; y carboxipolimetileno.

[0481] Típicamente, una composición farmacéutica para usar en la administración *in vivo* es estéril. La esterilización puede lograrse de acuerdo con métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, esterilización por calor, esterilización por vapor, filtración estéril o radiación.

[0482] Las dosificaciones y la concentración deseada del fármaco de las composiciones farmacéuticas descritas en la presente pueden variar en función del uso particular previsto. También se describieron en la sección XVII que antecede las dosificaciones adecuadas.

Kits

[0483] En algunas modalidades, se proporciona un kit para utilizar en el tratamiento de

un trastorno asociado con la progranulina (por ejemplo, una enfermedad neurodegenerativa (por ejemplo, FTD, NCL, NPA, NPB, NPC, ALS asociada con C9ORF72/FTD, ALS esporádica, AD, enfermedad de Gaucher (por ejemplo, enfermedad de Gaucher de tipo 2 y 3) y enfermedad de Parkinson), aterosclerosis, un trastorno asociado con TDP-43 y AMD)

5 que comprende una proteína de fusión descrita en la presente.

[0484] En algunas modalidades, el kit comprende además uno o más agentes terapéuticos adicionales. Por ejemplo, en algunas modalidades, el kit comprende una proteína de fusión descrita en la presente y comprende además uno o más agentes terapéuticos adicionales para usar en el tratamiento de trastornos asociados con la progranulina (por ejemplo, una enfermedad neurodegenerativa (por ejemplo, FTD)). En algunas modalidades, el kit comprende adicionalmente materiales instructivos que contienen directrices (es decir, protocolos) para la puesta en práctica de los métodos descritos en la presente (por ejemplo, instrucciones para usar el kit para administrar una proteína de fusión que comprende el polipéptido de progranulina a través de la barrera hematoencefálica). Si bien los materiales instructivos comprenden típicamente materiales escritos o impresos, no se limitan a estos. La presente descripción contempla cualquier medio capaz de almacenar tales instrucciones y comunicarlas a un usuario final. Dichos medios incluyen, de modo no taxativo, medios de almacenamiento electrónico (por ejemplo, discos magnéticos, cintas, cartuchos, chips), medios ópticos (por ejemplo, CD-ROM) y similares. Dichos medios pueden incluir direcciones a sitios de internet que proporcionan dichos materiales instructivos.

XIX. ANIMALES TRANSGÉNICOS

25 **[0485]** Además, la descripción proporciona también animales transgénicos no humanos que comprenden (a) un ácido nucleico que codifica un polipéptido de TfR quimérico que comprende: (i) un dominio apical con una identidad de al menos 90 % con respecto a la SEQ ID NO:296 y (ii) el sitio de unión a transferrina del polipéptido de TfR natural del animal, y (b) una inactivación del gen *GRN*, y donde el polipéptido de TfR quimérico se expresa en el cerebro del animal. Las formas quiméricas del receptor de transferrina incluyen un sitio de unión a transferrina de mamífero no humano (por ejemplo, ratón) y un dominio apical que es heterólogo con respecto al dominio que contiene el sitio de unión a transferrina. Estos receptores quiméricos pueden expresarse en animales transgénicos, particularmente donde el sitio de unión a transferrina se deriva de la especie de animal transgénico y donde

el dominio apical se deriva de un primate (por ejemplo, ser humano o mono). El polipéptido de TfR quimérico puede comprender una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos 95 % (por ejemplo, 97 %, 98 % o 99 %) con respecto a la SEQ ID NO:300. También se describe en la presente un polinucleótido que codifica un receptor de transferrina quimérico que comprende un sitio de unión a transferrina de mamífero no humano y un dominio apical que tiene una secuencia de aminoácidos con una identidad de al menos 80 %, 90 %, 95 % o 98 % con respecto a la SEQ ID NO:296. La secuencia de ácido nucleico que codifica el dominio apical puede comprender una secuencia de ácido nucleico que tiene una identidad de al menos 95 % (por ejemplo, 97 %, 98 % o 99 %) con respecto a la SEQ ID NO:301. El animal transgénico puede ser homocigoto o heterocigoto para el ácido nucleico que codifica el polipéptido de TfR quimérico. Además, la inactivación del gen *GRN* puede comprender una delección de los exones 1-4 del gen *GRN*.

[0486] Se han publicado en la bibliografía métodos para generar ratones con activación y estos son conocidos para el experto en la técnica. Un método para generar un ratón activado de TfR humano incluye una inyección pronuclear en embriones unicelulares, por ejemplo, en ratones C57Bl6, seguida por la transferencia de embriones a hembras pseudopreñadas. Más específicamente, se introducen en los embriones Cas9, ARNsg y un ADN donante. El ADN donante codifica la secuencia codificante del dominio apical humano que se optimizó por codones para la expresión en ratones. La secuencia codificante del dominio apical puede flanquearse con un grupo de homología izquierdo y derecho. La secuencia donante se diseña de esta forma de modo que el dominio apical se inserte luego del cuarto exón de ratón y se flanquee inmediatamente en el extremo 3' con el noveno exón de ratón. Un macho fundador de la progenie de las hembras que recibieron los embriones puede reproducirse luego con hembras de tipo salvaje para generar ratones heterocigotos F1. Los ratones homocigotos pueden generarse posteriormente a partir de la cruce de ratones heterocigotos de generación F1.

[0487] La descripción también proporciona un animal transgénico no humano, por ejemplo, no primate (por ejemplo, un ratón o una rata) que expresa en estos TfRs quiméricos y una inactivación del gen *GRN* y el uso del animal transgénico no humano para detectar polipéptidos que puedan cruzar la BBB al unirse al receptor de transferrina humano (huTfR) *in vivo*. En algunas modalidades, el animal transgénico no humano contiene un receptor de transferrina natural (tal como un receptor de transferrina de ratón (mTfR)), donde el dominio apical se reemplaza con un dominio apical ortólogo que tiene una secuencia de aminoácidos al menos 80 %, 90 %, 95 % o 98 % idéntica a la SEQ ID NO:296, lo cual deja

intacto al dominio de unión a transferrina natural y a la mayoría, por ejemplo, al menos 70 % o al menos 75 %, de la secuencia de aminoácidos que codifica el receptor de transferrina. Por lo tanto, este animal transgénico no humano conserva de forma máxima la funcionalidad de unión a transferrina del receptor de transferrina endógeno del animal no humano, lo que incluye la capacidad de mantener una homeóstasis correcta de hierro, así como de unirse y transportar la transferrina. Como resultado, el animal transgénico es saludable y adecuado para utilizar en el descubrimiento y desarrollo de agentes terapéuticos para el tratamiento de enfermedades cerebrales.

10 XX. EJEMPLOS

[0488] La presente descripción se tratará en mayor detalle a través de ejemplos específicos. Los siguientes ejemplos se proporcionan con fines ilustrativos solamente y no pretenden limitar la descripción de manera alguna. Los expertos en la técnica reconocerán fácilmente una variedad de parámetros no fundamentales pasibles de cambio o modificación para proporcionar esencialmente los mismos resultados. Se ha intentado garantizar la exactitud de las cifras utilizadas (por ejemplo, cantidades, temperaturas, etc.), pero pueden encontrarse presentes algunos errores y desvíos experimentales. La práctica de la presente descripción empleará, a menos que se indique lo contrario, métodos convencionales de química de proteínas, bioquímica, técnicas de ADN recombinante y farmacología, dentro de técnica. Estas técnicas se explican de forma exhaustiva en la bibliografía. Además, será evidente para el experto en la técnica que los métodos de modificación genética aplicados a determinadas bibliotecas también pueden aplicarse a otras bibliotecas descritas en la presente.

Ejemplo 1. Expresión y purificación de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN recombinante.

[0489] Para expresar las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN recombinante en Expi293 (Thermo-Fisher), se transfectaron células con una densidad de 2×10^6 células/mL con Expifectamine™ 293/complejo de ADN y plásmido de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Thermo-Fisher). Después de la transfección, se incubaron las células a 37 °C con una atmósfera humidificada de 6-8 % de CO₂ en un agitador orbital (Infors HT Multitron). Al día uno después de la transfección, se agregaron al cultivo los potenciadores de transfección 1 y 2 de Expifectamine™. Se cosechó el sobrenadante del medio mediante

centrifugado después de 96 horas después de la transfección. El sobrenadante aclarado se complementó con inhibidor de proteasa sin EDTA (Roche) y se almacenó a -80 °C.

[0490] Para el aislamiento de la proteína de fusión recombinante, el sobrenadante de medio aclarado se cargó en una columna de afinidad HiTrap MabSelect SuRe Protein A (GE Healthcare Life Sciences) y se lavó con amortiguador de lavado I (amortiguador PBS, pH 7,4) y amortiguador de lavado II (amortiguador PBS, pH 7,4 y NaCl 150 mM). La proteína de fusión se eluyó en amortiguador de citrato QB 50 mM a pH 3,0 con NaCl 150 mM. Inmediatamente después de la elución, se agregó el amortiguador de arginina-succinato (arginina 1 M, ácido succínico 685 mM, pH 5,0) para ajustar el pH. Se separaron los agregados de proteína de las proteínas de fusión monodispersas mediante cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) en una columna Superdex 200 Increase 16/60 GL (GE Healthcare Life Sciences). La fase móvil de SEC se mantuvo en amortiguador de arginina-succinato con pH 5,0. Todas las etapas de cromatografía se llevaron a cabo en sistemas de AKTA puro o AKTA Avant (GE Healthcare Life Sciences).

[0491] La FIG. 1A es una ilustración esquemática que muestra tres proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN, Fusión 1, Fusión 2 y Fusión 3. En Fusión 1 y Fusión 2, el extremo N de PGRN se fusiona al extremo C del polipéptido Fc que no contiene mutaciones de unión a TfR (indicadas mediante una estrella) a través de un enlazador $(G_4S)_2$ (SEQ ID NO:276) y un enlazador G_4S (SEQ ID NO:277), respectivamente. En Fusión 3, el extremo C de PGRN se fusiona al extremo N del polipéptido Fc que no contiene mutaciones de unión a TfR (indicadas mediante una estrella) a través de un enlazador $(G_4S)_2$. La FIG. 1B muestra que Fusión 1, Fusión 2 y Fusión 3, donde cada una contiene una molécula de PGRN, se purificaron hasta obtener una pureza mayor que 85 %.

[0492] La FIG. 1C es una ilustración esquemática que muestra las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 4, Fusión 5 y Fusión 6. En Fusión 4, cada una de las dos moléculas de PGRN se fusiona al extremo C de un polipéptido Fc a través del enlazador $(G_4S)_2$. Una molécula de PGRN se fusiona al extremo C del polipéptido Fc que contiene mutaciones de unión a TfR (indicadas mediante una estrella), mientras que la otra molécula de PGRN se fusiona al extremo C del polipéptido Fc sin las mutaciones de unión a TfR. En Fusión 5, una molécula de PGRN se fusiona al extremo N del polipéptido Fc que contiene mutaciones de unión a TfR (indicadas mediante una estrella) a través del enlazador $(G_4S)_2$, mientras que la otra molécula de PGRN se fusiona al extremo C del otro polipéptido Fc sin las mutaciones de unión a TfR. En Fusión 6, cada una de las dos moléculas de PGRN se fusiona al extremo N de un polipéptido Fc a través del enlazador $(G_4S)_2$. Una molécula de

PGRN se fusiona al extremo N del polipéptido Fc que contiene mutaciones de unión a TfR (indicadas mediante una estrella), mientras que la otra molécula de PGRN se fusiona al extremo N del polipéptido Fc sin las mutaciones de unión a TfR. La FIG. 1D muestra que las proteínas de fusión Fusión 4 y Fusión 5, donde cada una contiene dos moléculas de

5 PGRN, se purificaron hasta obtener una pureza mayor que 85 %.

[0493] Otras proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN incluyen Fusión 7 y Fusión 8 (FIG. 1E). Ambas proteínas de fusión Fusión 7 y Fusión 8 contienen polipéptidos Fc que no contienen mutaciones de unión a TfR. En Fusión 7, el extremo N de PGRN se fusiona al extremo C de un polipéptido Fc a través del enlazador (G₄S)₂. En Fusión 8, el extremo C de

10 PGRN se fusiona al extremo N de un polipéptido Fc a través del enlazador (G₄S)₂. Se describen otras proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN en la Tabla 1 que figura a continuación, que enumera las secuencias para cada proteína de fusión.

Tabla 1. Secuencias de dímero de Fc:PGRN

Dímero de Fc:PGRN	Polipéptido Fc y PGRN	Polipéptido Fc o polipéptido Fc y PGRN
Fusión 1	Bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:213	Bisagra parcial-polipéptido Fc con unión a TfR (CH3C.35.21.17) y mutación de botón: SEQ ID NO:273
Fusión 2	Bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal-G ₄ S-PGRN: SEQ ID NO:214	Bisagra parcial-polipéptido Fc con unión a TfR (CH3C.35.21.17) y mutación de botón: SEQ ID NO:273
Fusión 3	PGRN-(G ₄ S) ₂ -bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal: SEQ ID NO:225	Bisagra parcial-polipéptido Fc con unión a TfR (CH3C.35.21.17) y mutación de botón: SEQ ID NO:273
Fusión 4	Bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:213	Bisagra parcial-polipéptido Fc con unión a TfR (CH3C.35.21.17) y mutación de botón-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:274
Fusión 5	Bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:213	PGRN-(G ₄ S) ₂ -bisagra parcial-polipéptido Fc con unión a TfR (CH3C35.21.17) y mutación de botón: SEQ ID NO:275
Fusión 6	PGRN-(G ₄ S) ₂ -bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal: SEQ ID NO:225	PGRN-(G ₄ S) ₂ -bisagra parcial-polipéptido Fc con unión a TfR (CH3C35.21.17) y mutación de botón: SEQ ID NO:275

Fusión 7	Bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:213	Bisagra parcial-polipéptido Fc con mutación de botón: SEQ ID NO:261
Fusión 8	PGRN-(G ₄ S) ₂ -bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal: SEQ ID NO:225	Bisagra parcial-polipéptido Fc con mutación de botón: SEQ ID NO:261
Fusión 9	Bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LALA-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:215	Bisagra parcial-polipéptido Fc con unión a TfR (CH3C.35.21) y mutaciones de botón y LALA: SEQ ID NO: 110.
Fusión 10	PGRN-(G ₄ S) ₂ -bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LALA: SEQ ID NO:227	Bisagra parcial-polipéptido Fc con unión a TfR (CH3C.35.21) y mutaciones de botón y LALA: SEQ ID NO: 110.
Fusión 11	Bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LALA-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:215	Bisagra parcial-polipéptido Fc con unión a TfR (CH3C35.21.17) y mutaciones de botón y LALA: SEQ ID NO:291
Fusión 12	PGRN-(G ₄ S) ₂ -bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LALA: SEQ ID NO:227	Bisagra parcial-polipéptido Fc con unión a TfR (CH3C35.21.17) y mutaciones de botón y LALA: SEQ ID NO:291
Fusión 13	Bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LALA-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:215	Bisagra parcial-polipéptido Fc con unión a TfR (CH3C.35.21.17) y mutación de botón: SEQ ID NO:273
Fusión 14	PGRN-(G ₄ S) ₂ -bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LALA: SEQ ID NO:227	Bisagra parcial-polipéptido Fc con unión a TfR (CH3C.35.21.17) y mutación de botón: SEQ ID NO:273
Fusión 15	Bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LALA-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:215	Bisagra parcial-polipéptido Fc con unión a TfR (CH3C35.23.2) y mutaciones de botón y LALA: SEQ ID NO:210
Fusión 16	PGRN-(G ₄ S) ₂ -bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LALA: SEQ ID NO:227	Bisagra parcial-polipéptido Fc con unión a TfR (CH3C35.23.2) y mutaciones de botón y LALA: SEQ ID NO:210
Fusión 17	Bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LALA-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:215	Bisagra parcial-polipéptido Fc con unión a TfR (CH3C35.23.2) y mutaciones de botón y LALAPG: SEQ ID NO:282
Fusión 18	PGRN-(G ₄ S) ₂ -bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LALA: SEQ ID NO:227	Bisagra parcial-polipéptido Fc con unión a TfR (CH3C35.23.2) y mutaciones de botón y LALAPG: SEQ ID NO:282

Fusión 19	Bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LALA-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:215	Bisagra parcial-polipéptido Fc con unión a TfR (CH3C35.23.2) y mutaciones de botón, LALA y LS: SEQ ID NO:284
Fusión 20	PGRN-(G ₄ S) ₂ -bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LALA: SEQ ID NO:227	Bisagra parcial-polipéptido Fc con unión a TfR (CH3C35.23.2) y mutaciones de botón, LALA y LS: SEQ ID NO:284
Fusión 21	Bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LALA-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:215	Bisagra parcial-polipéptido Fc con unión a TfR (CH3C35.23.2) y mutaciones de botón, LALAPG y SL: SEQ ID NO:285
Fusión 22	PGRN-(G ₄ S) ₂ -bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LALA: SEQ ID NO:227	Bisagra parcial-polipéptido Fc con unión a TfR (CH3C35.23.2) y mutaciones de botón, LALAPG y SL: SEQ ID NO:285

Ejemplo 2. Unión recombinante de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN a hTfR y sortilina.

[0494] Todos los experimentos de resonancia de plasmones superficiales (SPR, por sus siglas en inglés) se llevaron a cabo en un instrumento GE Healthcare Biacore 8K con un chip sensor CM5 de serie S y amortiguador de ejecución HBS-EP+ a 25 °C. Para medir la afinidad de unión de las proteínas de fusión de hTfR, el chip sensor se inmovilizó con estreptavidina y se capturó AviTag-hTfR biotinilado. Se usaron parámetros cinéticos de ciclo único con una serie de concentración de 3 veces de analito de proteína de fusión dentro del intervalo de 25 nM – 2 µM, permitiendo un tiempo de contacto de 80 segundos, un tiempo de disociación de 180 segundos y una velocidad de flujo 30 µL/min. Se usó un modelo de afinidad de estado estable para demostrar que las proteínas de fusión pueden unirse a hTfR.

[0495] Para medir la afinidad de unión de la sortilina, las proteínas de fusión se capturaron mediante el uso de un chip sensor que se inmovilizó con un kit de captura de anticuerpos humanos GE Healthcare. Se usaron parámetros cinéticos de múltiples ciclos con una serie de concentración de 3 veces de analito de sortilina dentro del intervalo de 0,4 nM – 100 nM, permitiendo un tiempo de contacto de 300 segundos, un tiempo de disociación de 600 segundos y una velocidad de flujo 30 µL/min. Se usó un modelo de parámetros cinéticos 1:1 para evaluar la cinética de unión de la unión a sortilina. Las afinidades de unión de dos proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN a la sortilina son las siguientes: Fusión 1: 19 nM y Fusión 2: 19 nM, que son similares a la afinidad de unión a sortilina para PGRN informada en la bibliografía (alrededor de 18 nM). Fusión 3 no pareció unirse a la sortilina.

La fusión de Fc al extremo C de PGRN puede bloquear el sitio de unión a sortilina de PGRN. De manera alternativa, el Fc inmovilizado utilizado en el ensayo Biacore puede provocar un obstáculo estérico para la sortilina en el acceso al extremo C de PGRN.

5 Ejemplo 3. Absorción celular.

[0496] Los macrófagos derivados de médula ósea (BMDM) aislados de ratones con *GRN* WT y KO se trataron durante 16 horas con progranulina (PGRN) recombinante 50 nM (Adipogen), 50 nM de proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN o lentivirus de PGRN humana. Los BMDM fijos se inmunotñeron con anticuerpos contra PGRN humana (R&D Systems) y Fc humano (Thermo Fisher Scientific). La absorción celular se cuantificó con una plataforma de captura de imágenes de alto contenido Opera Phenix (PerkinElmer) en modo confocal. El tratamiento con PGRN recombinante y las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN de longitud completa (Fusión 1, Fusión 2 y Fusión 3) llevó a un aumento potente de PGRN celular, como muestran las tinciones de PGRN y Fc (FIGS. 2A y 2B), lo que indica una absorción eficaz. Se usó como control negativo la proteína de fusión E de granulina (SEQ ID NO:280 (bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal-(G₄S)₂-Granulina E (aminoácidos 497-593 de la SEQ ID NO:211)) dimerizada con el polipéptido Fc con mutaciones de botón).

20 Ejemplo 4. Ensayo de proteólisis.

Ensayo DQ-BSA

[0497] DQ-BSA Red es una proteína de BSA muy conjugada con tinte rojo BODIPY. DQ-BSA Red es un sustrato fluorogénico (excitación máxima a 590 nm, emisión a 615 nm) para proteasas residentes del sistema endolisosomal. Luego de hidrolizar el DQ-BSA en péptidos más pequeños etiquetados con tinte dentro de los lisosomas, se alivia el efecto fuerte de autoinactivación que otorga el etiquetado abundante del tinte Bodipy, lo que produce un gran aumento de la fluorescencia que es susceptible a cuantificación mediante microscopía confocal.

[0498] En experimentos, los BMDM aislados de ratones con *GRN* WT y KO se trataron durante 6 horas con una concentración final de 10 µg/mL de DQ-BSA Red en medio completo. Este plazo permitió que el DQ-BSA se cargara en las células de manera pasiva a través de endocitosis de fase fluida, lo que lleva a su distribución a través de la red endolisosomal, y finalmente a su proteólisis en lisosomas.

[0499] Después de completar las 6 horas de tratamiento, los BMDM se lavaron tres veces con PBS y se fijaron con PFA al 4 % en PBS durante 15 minutos. Para marcar los núcleos celulares para microscopía confocal, los BMDM fijos se trataron con 1 µg/mL de DAPI (Thermo-Fisher) en PBS durante 10 minutos y se capturaron en una plataforma de captura de imágenes de alto contenido Opera-Phenix (PerkinElmer). La señal Bodipy-Red sin inactivación se midió mediante excitación a 568 nm y la proteólisis endolisosomal se cuantificó al calcular el área de Bodipy integrada por célula mediante el uso de un módulo de análisis automatizado incorporado en el software Harmony (PerkinElmer).

[0500] Se pretrataron BMDM de *GRN* WT y KO BMDM con 50 nM de PGRN recombinante (Adipogen), 50 nM de proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN o lentivirus de PGRN humana durante 48 horas. Un conjugado de Bodipy-BSA fluorogénico inactivado (DQ-BSA Red, Thermo Fisher Scientific) se agregó a los BMDM pretratados a una concentración final de 10 µg/mL durante 6 horas. Se midió la señal de Bodipy-Red no inactivada mediante excitación a 568 nm con una plataforma de captura de imágenes de alto contenido Opera Phenix (PerkinElmer) en modo confocal. La proteólisis endolisosomal se cuantificó al calcular el área de Bodipy integrada por célula mediante el uso de un módulo de análisis automatizado incorporado en el software Harmony (PerkinElmer). Las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN mostraron un rescate ya sea completo (Fusión 1) o parcial (Fusión 2 y Fusión 3) de la deficiencia de déficits proteolíticos en BMDM KO (FIG. 3). Tal como se muestra en la Figura 3, la proteína de fusión E de granulina (SEQ ID NO:280 (bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal-(G₄S)₂-Granulina E (aminoácidos 497-593 de la SEQ ID NO:211)) dimerizada con el polipéptido Fc con mutaciones de botón) no pudo rescatar la proteólisis.

Ejemplo 5. Respuesta a la dosis del conjugado de Bodipy-BSA.

[0501] Los BMDM WT y KO de *GRN* se trataron durante 24 hpras en un ensayo de conjugado de Bodipy-BSA (DQ-BSA) con titulaciones de dosis semilogarítmicas (100 nM hasta 10 pM) de las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN (Fusión 1, Fusión 3, Fusión 4 y Fusión 5). La proteólisis endolisosomal se determinó como se describió anteriormente. Fusión 5 mostró evidencia de una potencia mejorada en DQ-BSA (FIG. 4).

Ejemplo 6. Ensayo de catepsina D.

[0502] Se usó una sonda fluorogénica para medir la actividad de catepsina D en lisados celulares. Los BMDM de *GRN* WT y KO se trataron durante 72 horas con proteínas de

fusión de dímero de Fc:PGRN a 50 nM, luego se lisaron las células en amortiguador de lisis CST. El lisado celular se diluyó en el amortiguador de ensayo de pH bajo y se mezcló con la sonda fluorogénica. La actividad de catepsina D se leyó en un lector de placas y se calculó como múltiplo sobre WT sin tratar. Tres proteínas de fusión (Fusión 1, Fusión 2 y Fusión 3) mostraron un rescate parcial de la actividad de catepsina D elevada observada en los BMDM con *GRN* KO (FIG. 5).

Ejemplo 7. Desregulación de genes lisosomales.

[0503] Los BMDM de *GRN* WT y KO se trataron durante 72 horas con la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 1 entre 5 nM y 50 nM. Se lisaron las células y se extrajo el ARN mediante el uso del kit Cell-to-CT (Fisher Scientific). Los niveles de ARNm de los genes lisosomales *Ctsl*, *Tmem106b* y *Psap* se midieron a través de qPCR. El tratamiento con la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 1 mostró un rescate parcial de la elevación de los genes lisosomales en los BMDM de *GRN* KO (FIGS. 6B-6D).

Ejemplo 8. Propiedades farmacocinéticas de las proteínas de fusión en plasma e hígado.

[0504] Los ratones WT se dosificaron una vez a 10 mg/kg de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 1 o Fusión 3, y se obtuvieron muestras de plasma en los momentos indicados. El hígado se homogenizó en amortiguador de lisis CST mediante el uso de homogenización de perlas. La concentración de cada proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN se midió a través de ELISA en muestras de plasma e hígado mediante el uso de una arquitectura de Fc-captura-PGRN-detección. Los perfiles PK indican una depuración y semivida similares de las dos proteínas de fusión (FIGS. 7A y 7B).

Ejemplo 9. Absorción en el cerebro de las proteínas de fusión en ratones con activación de hTfR.

[0505] Este estudio tuvo el fin de determinar si las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN (Fusión 1 y Fusión 3) pueden detectarse en el cerebro de ratones que expresan hTfR (para una descripción de los ratones, ver, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 10,143,187). Las proteínas de fusión se inyectaron mediante la vena de la cola en ratones con activación de hTfR (hTfR.KI) (homocigotos) y no transgénicos para intentar determinar si puede detectarse la progranulina humana (hPGRN) en el cerebro de ratones hTfR.KI y, de ser así, cuál es el aumento múltiplo de hPGRN en los ratones hTfR.KI sobre el de los ratones no transgénicos sin el hTfR a los que se inyectó.

Materiales y métodos

- 5 **[0506]** Animales: Los ratones utilizados para este estudio se obtuvieron de JAX Laboratories y consistieron en 16 ratones hTfR.KI (homocigotos) y 10 machos C57BL/6 no transgénicos de 8 semanas. Los animales se alojaron en condiciones estándar en el vivario con acceso a comida y agua a voluntad al menos 7 días antes del inicio del estudio.

Tabla 2. Diseño del estudio/grupos experimentales

Genotipo	Proteína	Dosis (mg/kg)	Puntos temporales (h)	n/grupo	Tejido/fluidos a recolectar	Material (mg)
hTfR.KI (homocigoto)	Vehículo	-	15, 4	4	Plasma, cerebro, hígado	NC
	Fusión 1	50	15, 4	5	Plasma, cerebro, hígado	7,5 mg
	Fusión 3	50	15, 4	6	Plasma, cerebro, hígado	7,5 mg
WT	Fusión 1	50	15, 4	5	Plasma, cerebro, hígado	7,5 mg
	Fusión 3	50	15, 4	5	Plasma, cerebro, hígado	7,5 mg

- 10 **[0507]** Asignación de los animales a los grupos experimentales: Todos los animales utilizados en este estudio fueron machos pero se distribuyeron de forma igual en cada grupo experimental para compensar las diferencias entre camadas.
- [0508]** Formulación: Las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 1 y Fusión 3 se usaron a 5,87 mg/mL y 4,98 mg/mL, respectivamente.
- 15 **[0509]** Procedimientos generales: Las condiciones experimentales se alternaron al recolectar tejidos. Los grupos de animales y las recolecciones de muestras fueron aleatorios.
- [0510]** Procedimientos *in vivo*: Se llevaron a cabo extracciones submandibularon mediante el uso de lancetas de 3 mm (lancetas para animales GoldenRod). Recolección de plasma: Se recolectó sangre en tubos de EDTA (Sarstedt Microvette 500 K3E, n.º de ref. 201341102) y se invirtieron lentamente 10 veces. Para volúmenes pequeños de sangre (<100 µL), la sangre se recolectó en tubos de EDTA con tubos capilares (Sarstedt Microvette 100 K3E, n.º de ref. 201278100). Los tubos de EDTA se almacenaron
- 20

inmediatamente en el refrigerador hasta la preparación de plasma. El tiempo entre el almacenamiento y la preparación no superó 1 hora. El tiempo de recolección y el tiempo de procesamiento se siguieron de manera congruente. Los tubos se centrifugaron a 12 700 rpm durante 7 minutos a 4 °C. El plasma (capa superior) se transfirió a tubos Matrix de 0,6 mL con tapón de goma. Los tubos Matrix se congelaron de forma instantánea antes de transferirlos a -80 °C.

[0511] Procedimientos de recolección de tejidos/fluidos terminales: Los animales se sometieron a anestesia profunda mediante inyección intraperitoneal (i.p.) de Avertina al 2,5 % y luego se recolectaron tejidos en el orden descrito a continuación:

10 **[0512]** Muestras recolectadas antes de la perfusión intracardíaca: Recolección de plasma: La sangre se extrajo mediante punción cardíaca con una jeringa de tuberculina Terumo de 1 mL acoplada a una jeringa de calibre 25 (n.º de ref. SS-01T2516) (no preacondicionada con EDTA). Después se desprendió la aguja y la sangre se transfirió a tubos de EDTA (Sarstedt Microvette 500 K3E, n.º de ref. 201341102) que se invirtieron
15 lentamente 10 veces. Después de este procedimiento, se continuaron los métodos posteriores a la recolección como se describió anteriormente en Procedimientos *in vivo*.

[0513] Para las muestras tomadas después de la perfusión intracardíaca, los animales se sometieron a perfusión transcardíaca durante 5 minutos con PBS helado mediante el uso de una bomba peristáltica (Gilson Inc. Minipuls Evolution F110701) a una velocidad de
20 flujo de 5 mL/minuto. Para los tejidos que pueden disecarse y pesarse previamente durante la recolección, las muestras se colocaron directamente en tubos Eppendorf de 1,5 mL. Los tejidos se tomaron en el siguiente orden: Hígado (después de perfusión): se recolectaron alrededor de 100 mg de hígado en tubos Eppendorf de 1,5 mL. Los tubos Eppendorf se congelaron de forma instantánea antes de transferirlos a -80 °C. Cerebro: Se disecó el
25 hemisferio derecho en PK y otras partes del cerebro. Se recolectaron 50 mg de PK y partes restantes del cerebro en tubos Eppendorf de 1,5 mL. Los tubos Eppendorf se congelaron de forma instantánea antes de transferirlos a -80 °C. El hemisferio izquierdo se colocó en 4 mL de paraformaldehído al 4 % recién preparado a 4 °C durante 72 horas y luego se transfirió a sacarosa al 30 % durante 72 horas antes de cortarse en microtomo congelador
30 de forma coronal a 30 µm/sección.

Protocolo para homogeneización

[0514] El amortiguador de homogenización se realizó al confeccionar un amortiguador de lisis celular 1X de Cell Signaling Technology 10X (n.º de cat.: 9803) (amortiguador 1X: Tris-

HCl 20 mM (pH 7,5), NaCl 150 mM, Na₂EDTA 1 mM, EGTA 1 mM, Triton al 1 %, pirofosfato de sodio 2,5 mM, β -glicerofosfato 1 mM, Na₃VO₄ 1 mM , 1 μ g/mL de leupeptina) y complementar con inhibidor de proteasa 1X (Completo, comprimido de minicóctel de inhibidor de proteasa, Roche n.º de cat. 04693124001) e inhibidor de fosfatasa 1X (PhosSTOP, Roche, n.º de cat. 04906837001). Se agregó amortiguador de lisis a un volumen de alrededor de 10X del peso del tejido para las muestras de cerebro e hígado en tubos de 1,5 mL. Se agregó a cada tubo una perla de carburo de tungsteno de 3 mm (Qiagen, n.º de cat. 69997) y los tubos se cargaron en casetes TissueLyser. Las muestras se homogeneizaron en el TissueLyser II (Qiagen n.º de cat. 85300) a 29 Hz durante 6 minutos (2x ejecuciones de 3 minutos). Luego se retiraron las muestras y se procesaron a velocidad máxima (18 000xg) en la centrífuga de mesa durante 30 minutos a 4 °C. El sobrenadante se transfirió a un nuevo tubo Eppendorf de 1,5 mL y se midió la concentración de proteína mediante el uso de BCA.

Protocolo para la captura de Fc de hPGRN en ELISA

[0515] Para el ELISA, se recubrieron microplacas transparentes de 384 pocillos (Thermo Fisher Scientific 464718) con un anticuerpo policlonal de burro específico para Fc humano (Jackson ImmunoResearch n.º 709-006-098). El anticuerpo de captura se diluyó hasta una concentración final de 1 μ g/mL en un amortiguador de bicarbonato de sodio. Se agregaron 25 μ L/pocillo de la solución de recubrimiento de captura a cada placa de ensayo, y las placas se incubaron durante la noche a 4 °C.

[0516] El día del ensayo, las placas de ensayo se lavaron 3 veces con amortiguador PBST mediante el uso de un lavador de placas automatizado (Biotek), después de lo cual se agregaron 80 μ L/pocillo de una solución de bloqueo (BSA al 5 % en amortiguador PBST). Las placas de ensayo se incubaron en la solución de bloqueo durante al menos 1 hora a temperatura ambiente. Durante el bloqueo, se prepararon diluciones de las muestras de plasma, lisado de hígado y lisado de cerebro en amortiguador diluyente de ensayo (BSA al 1 % en PBST) en placas de polipropileno con fondo en V de 96 pocillos (Greiner Bio-One 651201). Para el plasma, se prepararon diluciones en serie de 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10 000, 1:100 000 y 1:1 000 000. Para el hígado, se prepararon diluciones en serie de 1:20, 1:100, 1:200, 1:400 y 1:800. Para el cerebro, se prepararon diluciones en serie de 1:10 y 1:40. Además, se prepararon muestras de curva estándar con una concentración dentro del intervalo de 2 nM a 0 nM para Fusión 1 y Fusión 3 mediante el uso del mismo material de partida que se utilizó para la dosificación. Para todas las muestras y estándares,

se preparó un volumen mínimo de 100 μ L en placas de 96 pocillos.

[0517] Después del bloqueo, las placas de ensayo se lavaron 3 veces con PBST mediante el uso de la lavadora de placas, y luego se utilizó un robot de transferencia de líquidos (Hamilton) para transferir 25 μ L de cada estándar o muestra (por duplicado) a las placas de ensayo. Después de la transferencia de muestras, las placas de ensayo se cubrieron y se incubaron durante 2 horas a temperatura ambiente.

[0518] Se preparó una solución de anticuerpos de detección mediante la dilución de un anticuerpo de detección de progranulina humana policlonal de cabra (R&D #BAF2420; FIGS. 8A, 8B, 9A y 9B) u otro anticuerpo de detección dirigido a un sitio de Fc (FIGS. 10A, 10B, 11A y 11B) hasta una concentración final de 0,5 μ g/mL en el amortiguador diluyente de ensayo. Después de la incubación de las muestras, las placas se lavaron 6 veces con PBST mediante el uso de la lavadora de placas (haciendo girar las placas 180 grados después de los primeros 3 lavados), y se agregaron a las placas 25 μ L/pocillo de la solución de detección. Las placas de ensayo se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente con el anticuerpo de detección, después de lo cual se lavaron 3 veces con PBST en la lavadora de placas. Se preparó una solución de trabajo de estreptavidina-HRP (Jackson ImmunoResearch #016-030-084) al diluir la solución madre de estreptavidina-HRP 1:50 000 en amortiguador diluyente de ensayo. Se agregaron 25 μ L/pocillo de esta solución a cada pocillo y las placas se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente.

[0519] Después de la incubación con estreptavidina-HRP, las placas se lavaron 3 veces con PBST en la lavadora de placas, y se agregaron 25 μ L/pocillo de la solución de sustrato 1-Step Ultra-TMB (Thermo Fisher #34029) a las placas de ensayo. Las placas de ensayo se incubaron a temperatura ambiente durante aproximadamente 10 minutos para permitir que se desarrollara el color, después de lo cual se agregaron 25 μ L/pocillo de solución de parada líquida BioFX 450 nm (Surmodics # LSTP-1000-01). Después de la adición de la solución de parada, se leyeron las placas mediante el uso del modo de absorbancia de un lector de placas (BioTek).

[0520] Los datos de absorbancia en bruto del ELISA se analizaron primero al restar la señal de absorbancia de fondo (de pocillos sin muestra ni estándar en el diluyente de ensayo) de todos los pocillos de ensayo. A través de la curva de estándar, las muestras se ajustaron a una ecuación de modelo logístico de cuatro parámetros mediante el uso del software GraphPad Prism, y el ajuste se usó para calcular la concentración de Fusión 1 y Fusión 3 en cada muestra de lisado de tejido o plasma (después de corregir la dilución de muestras). Para los lisados de cerebro e hígado, las concentraciones se multiplicaron por

10 para ajustar la dilución del tejido durante la preparación del lisado para obtener el valor de concentración de la muestra de tejido original.

Resultados

- 5 **[0521]** Los niveles en el cerebro e hígado de las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN en ratones hTfR y WT se muestran las FIGS. 8A y 8B (generadas mediante el uso del anticuerpo de detección de progranulina policlonal de cabra biotinilado (R&D #BAF2420)). Los ratones hTfR mostraron un aumento significativo de la absorción de las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN en comparación con la de los ratones WT. Las
- 10 FIGS. 9A y 9B muestran las relaciones de cerebro:plasma y cerebro:hígado, respectivamente, de las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 1 y Fusión 3 normalizadas a Fusión 3 en WT. Además, las FIGS. 10A, 10B, 11A y 11B (generadas mediante el uso de un anticuerpo de detección distinto que se dirige a un sitio del Fc) también muestran que los ratones hTfR tuvieron una absorción mayor de proteínas de
- 15 fusión de dímero de Fc:PGRN en el cerebro en comparación con la de los ratones WT.

Ejemplo 10. Propiedades farmacocinéticas de las proteínas de fusión en plasma.

- [0522]** Los ratones WT se dosificaron una vez a 10 mg/kg de la proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 1 o Fusión 3, y se obtuvieron muestras de plasma en los
- 20 momentos indicados. La concentración de cada proteína de fusión de dímero de Fc:PGRN se midió a través de ELISA en muestras de plasma mediante el uso de una arquitectura de Fc-captura-Fc-detección. El anticuerpo de detección utilizado detecta un sitio en el Fc de las proteínas de fusión. Las FIGS. 12A y 12B indican las concentraciones promedio en plasma de Fusión 1 y Fusión 3. Las FIGS. 12C y 12D indican las concentraciones en plasma
- 25 de Fusión 1 y Fusión 3 a las 0,25 horas y 4 horas después de la dosificación.

Ejemplo 11. Polipéptidos Fc modificados que se unen a TfR.

- [0523]** Este ejemplo describe modificaciones de los polipéptidos Fc para otorgarles una unión al receptor de transferrina (TfR) y un transporte a través de la barrera
- 30 hematoencefálica (BBB).
- [0524]** A menos que se indique lo contrario, las posiciones de los residuos de aminoácidos en esta sección se numeran en función de la numeración del índice EU para una región Fc de tipo salvaje de IgG1 humana.

Generación y caracterización de polipéptidos Fc que comprenden modificaciones en las posiciones 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 y 421 (clones CH3C)

[0525] Se generaron bibliotecas de levaduras que contienen regiones Fc con modificaciones introducidas en posiciones que incluyen las posiciones de aminoácidos 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 y 421 como se describe más adelante. Se muestran en las Tablas 6 y 7, al final de la sección de Ejemplos, clones ilustrativos que se unen a TfR.

[0526] Luego de dos rondas adicionales de clasificación, se secuenciaron clones individuales y se identificaron cuatro secuencias únicas. Estas secuencias tuvieron Trp conservado en la posición 388 y todas tuvieron un residuo aromático (es decir, Trp, Tyr o His) en la posición 421. Existió una gran cantidad de diversidad en otras posiciones.

[0527] Los cuatro clones seleccionados de la biblioteca se expresaron como fusiones de Fc a fragmentos Fab en células CHO o 293, purificadas con proteína A y cromatografía de exclusión por tamaño, y luego se analizaron para determinar la unión a TfR humano en presencia o ausencia de holo-Tf mediante ELISA. Todos los clones se unieron a TfR humano y la unión no se vio afectada por la adición de un exceso de holo-Tf (5 μ M). Los clones también se evaluaron para determinar la unión a células 293F, que expresaron TfR humano de forma endógena. Los clones se unieron a células 293F, aunque la unión general fue sustancialmente más débil que el control positivo de alta afinidad.

[0528] Luego, se evaluó si los clones podrían internalizarse en las células que expresan TfR con un clon CH3C.3 como un clon de prueba. Las células HEK 293 adherentes se cultivaron en placas de 96 pocillos con una confluencia de hasta alrededor de 80 %, se eliminó el medio y las muestras se agregaron en concentraciones 1 μ M: el clon CH3C.3, el anticuerpo de control positivo de referencia anti-TfR (Ab204), el anticuerpo de control negativo de referencia anti-BACE1 (AB107) y el control de isotipo de IgG humana (obtenido de Jackson Immunoresearch). Las células se incubaron a 37 °C y a una concentración de CO₂ al 8 % durante 30 minutos, luego se lavaron, se permeabilizaron con Triton™ X-100 al 0,1 % y se tiñeron con un anticuerpo secundario Alexa Fluor® 488 anti-IgG humana. Luego de un lavado adicional, las células se sometieron a imagenología bajo un microscopio de fluorescencia de alto contenido (es decir, un sistema Opera Phenix™) y se cuantificó la cantidad de puntos por célula. A 1 μ M, el clon CH3C.3 mostró una propensión similar a la internalización con respecto al control anti-TfR positivo, mientras que los controles negativos no mostraron ninguna internalización.

Modificación adicional de clones

[0529] Se generaron bibliotecas adicionales para mejorar la afinidad de los resultados iniciales con respecto al TfR humano mediante un abordaje de aleatorización leve, donde se generaron oligos de ADN para introducir una mutagénesis leve en función de cada uno de los cuatro resultados originales. Se identificaron clones adicionales que se unieron a TfR y se seleccionaron. Los clones seleccionados se clasificaron en dos grupos de secuencias generales. Los clones del Grupo 1 (es decir, clones CH3C.18, CH3C.21, CH3C.25 y CH3C.34) tuvieron una Leu semiconservada en la posición 384, Leu o His en la posición 386, Val conservada y semiconservada en las posiciones 387 y 389, respectivamente y un motivo P-T-W semiconservado en las posiciones 413, 416 y 421, respectivamente. Los clones del Grupo 2 tuvieron un Tyr conservado en la posición 384, el motivo TXWSX en las posiciones 386-390 y el motivo conservado S/T-E-F en las posiciones 413, 416 y 421, respectivamente. Los clones CH3C.18 y CH3C.35 se utilizaron en estudios adicionales como miembros representativos de cada grupo de secuencias.

15 *Mapeo de epítomos*

[0530] Para determinar si las regiones Fc modificadas se unieron al dominio apical de TfR, se expresó el dominio apical de TfR en la superficie de fagos. Para plegar y expresar adecuadamente el dominio apical, fue necesario truncar uno de los bucles y permutar circularmente la secuencia. Los clones CH3C.18 y CH3C.35 se recubrieron en placas ELISA y se siguió un protocolo ELISA para fagos. En resumen, luego de lavar y bloquear con PBSA al 1 %, se agregaron las diluciones de expresión en fagos y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora. Las placas se lavaron posteriormente y se agregó anti-M13-HRP, y luego de un lavado adicional, las placas se desarrollaron con un sustrato de TMB y se inactivaron con H₂SO₄ 2N. Ambos clones CH3C.18 y CH3C.35 se unieron al dominio apical en este ensayo.

Mapeo de parátomos

[0531] Para entender cuáles residuos del dominio Fc fueron más importantes para la unión a TfR, se creó una serie de regiones Fc mutantes del clon CH3C.18 y el clon CH3C.35, donde cada mutante tuvo una posición única en el registro de unión a TfR retromutada al tipo salvaje. Las variantes resultantes se expresaron de forma recombinante como fusiones Fc-Fab y se evaluaron para determinar la unión a TfR humano o de cyno. Para el clon CH3C.35, las posiciones 388 y 421 fueron importantes para la unión; la reversión de cualquiera de estos al tipo salvaje extirpó totalmente la unión a TfR humano.

Caracterización de la unión de clones maduros

[0532] Se llevaron a cabo ELISA de unión con variantes de fusión Fc-Fab purificadas con TfR humano o de cyno con el que se recubrió la placa, como se describió anteriormente.

- 5 Las variantes de la biblioteca de maduración del clon CH3C.18, el clon CH3C.3.2-1, el clon CH3C.3.2-5 y el clon CH3C.3.2-19, se unieron a TfR humano y de cyno con valores EC_{50} aproximadamente equivalentes, mientras que los clones CH3C.18 y CH3C.35 originales tuvieron una unión a TfR humano más de 10 veces mejor con respecto a cyno.

- [0533]** Luego, se evaluó si los polipéptidos Fc modificados se internalizaron en células
10 humanas y de mono. Mediante el uso del protocolo descrito anteriormente, se evaluó la internalización de células HEK 293 humanas y células LLC-MK2 de rhesus. Las variantes que se unieron de forma similar a TfR humano y de cyno, los clones CH3C.3.2-5 y CH3C.3.2-19, tuvieron una internalización significativamente mejor en células LLC-MK2 en comparación con el clon CH3C.35.

15

Modificación adicional de clones

[0534] La modificación adicional de los otros clones madurados por afinidad CH3C.18 y CH3C.35 implicó agregar de mutaciones adicionales a las posiciones que potenciaron la unión a través de las interacciones directas, interacciones de segunda cubierta o
20 estabilización de estructuras. Esto se logró mediante la generación y selección de una biblioteca de “recorrido de NNK” o “parche de NNK”. La biblioteca de recorrido de NNK implicó realizar mutaciones NNK de los residuos uno por uno que se encuentran cerca del parátipo. Al observar la estructura de Fc unido a FcγRI (PDB ID: 4W4O), se identificaron 44 residuos cerca de las posiciones originales como candidatos para obtención de datos.

- 25 Específicamente, se seleccionaron como objetivo los residuos que figuran a continuación para la mutagénesis de NNK: K248, R255, Q342, R344, E345, Q347, T359, K360, N361, Q362, S364, K370, E380, E382, S383, G385, Y391, K392, T393, D399, S400, D401, S403, K409, L410, T411, V412, K414, S415, Q418, Q419, G420, V422, F423, S424, S426, Q438, S440, S442, L443, S444, P4458, G446 y K447. Se generaron las 44 bibliotecas de NNK de
30 punto único mediante la mutagénesis Kunkel, y los productos se agruparon e introdujeron en levadura mediante electroporación, como se describió anteriormente para otras bibliotecas de levadura.

[0535] La combinación de estas minibibliotecas (cada una de las cuales tuvo una posición mutada que produjo 20 variantes) generó una biblioteca pequeña que se seleccionó con

expresión superficial de levadura para cualquier posición que condujo a una unión con mayor afinidad. Las selecciones se llevaron a cabo como se describió anteriormente, con el uso de proteínas del dominio apical de TfR. Luego de tres rondas de clasificación, los clones de la biblioteca de levadura enriquecida se sometieron a secuenciación y se

5 identificaron varias posiciones “clave”, donde determinadas mutaciones puntuales mejoraron significativamente la unión a las proteínas del dominio apical. Para el clon CH3C.35, estas mutaciones incluyeron E380 (mutado a Trp, Tyr, Leu o Gln) y S415 (mutado a Glu). Las secuencias de los mutantes simples y de combinación del clon CH3C.35 se establecen en las SEQ ID NO:27-38. Para el clon CH3C.18, estas mutaciones incluyeron

10 E380 (mutado a Trp, Tyr o Leu) y K392 (mutado a Gln, Phe o His). Las secuencias de los mutantes simples del clon CH3C.18 se establecen en las SEQ ID NO:21-26.

Bibliotecas de maduración adicionales para mejorar la afinidad del clon CH3C.35

[0536] Se generó una biblioteca adicional para identificar combinaciones de mutaciones a partir de la biblioteca de recorrido de NNK, mientras que se agregaron varias posiciones

15 adicionales en la periferia de estas, como se describió para las bibliotecas de levadura anteriores. En esta biblioteca, los motivos YxTEWSS (SEQ ID NO:302) y TxxExxxxF se mantuvieron constantes y se aleatorizaron completamente seis posiciones: E380, K392, K414, S415, S424 y S426. Se incluyeron las posiciones E380 y S415 dado que fueron

20 “clave” en la biblioteca de recorrido de NNK. Se incluyeron las posiciones K392, S424 y S426 dado que forman parte del núcleo que puede posicionar la región de unión, mientras que K414 se seleccionó debido a su adyacencia a la posición 415.

[0537] Esta biblioteca se clasificó, como se describió previamente, solamente con el dominio apical de TfR de cyno. El grupo enriquecido se sometió a secuenciación luego de

25 cinco rondas y las secuencias de las regiones modificadas de los clones únicos identificados se establecen en las SEQ ID NO:42-59.

[0538] Se diseñaron las siguientes bibliotecas para explorar adicionalmente la diversidad aceptable en el parátipo de unión principal. Cada una de las posiciones originales (384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 y 421) más las dos posiciones clave (380 y 415) se

30 aleatorizaron individualmente con codones de NNK para generar una serie de bibliotecas de mutagénesis por saturación de posición única en levadura. Además, cada posición se revertió individualmente al residuo de tipo salvaje y estos clones individuales fueron expresados en la levadura. Se observó que las posiciones 380, 389, 390 y 415 fueron las únicas posiciones que mantuvieron una unión sustancial a TfR luego de la reversión al

residuo de tipo salvaje (se observó algo de unión residual, pero ampliamente disminuida para la reversión de 413 al tipo salvaje).

[0539] Se clasificaron bibliotecas de NNK de posición única para tres rondas con respecto al dominio apical de TfR para recolectar el ~5 % superior de aglutinantes y luego se secuenciaron al menos 16 clones de cada biblioteca. Los resultados indican cuáles aminoácidos de cada posición pueden ser tolerados sin reducir significativamente la unión a TfR humano, en el contexto del clon CH3C.35. Se presenta un resumen a continuación:

Posición 380: Trp, Leu o Glu;

Posición 384: Tyr o Phe;

10 Posición 386: Thr solamente;

Posición 387: Glu solamente;

Posición 388: Trp solamente;

Posición 389: Ser, Ala o Val (si bien el residuo de Asn de tipo salvaje parece mantener algo de unión, no apareció luego de la clasificación de la biblioteca);

15 Posición 390: Ser o Asn;

Posición 413: Thr o Ser;

Posición 415: Glu o Ser;

Posición 416: Glu solamente; y

Posición 421: Phe solamente.

20 **[0540]** Los residuos que anteceden, cuando se sustituyen en el clon CH3C.35 como cambios únicos o en combinaciones, representan una diversidad de parátomos que mantienen la unión al dominio apical de TfR. Los clones que tienen mutaciones en estas posiciones incluyen los que se muestran en la Tabla 7 y las secuencias de los dominios CH3 de estos clones se establecen en las SEQ ID NO:34-38, 58 y 60-90.

25

Ejemplo 12. Posiciones de Fc adicionales que pueden modificarse para otorgar una unión a TfR.

[0541] Se generaron otros polipéptidos Fc modificados que se unen a un receptor de transferrina (TfR) con modificaciones en sitios alternativos de la región Fc, por ejemplo, en las siguientes posiciones:

30

posiciones 274, 276, 283, 285, 286, 287, 288 y 290 (clones de CH2A2);

posiciones 266, 267, 268, 269, 270, 271, 295, 297, 298 y 299 (clones de CH2C);

posiciones 268, 269, 270, 271, 272, 292, 293, 294 y 300 (clones de CH2D);

posiciones 272, 274, 276, 322, 324, 326, 329, 330 y 331 (clones de CH2E3); o

posiciones 345, 346, 347, 349, 437, 438, 439 y 440 (clones de CH3B);

[0542] Los clones de CH3B ilustrativos que se unen a TfR se establecen en las SEQ ID NO:111-115. Los clones de CH2A2 ilustrativos que se unen a TfR se establecen en las SEQ ID NO:116-120. Los clones de CH2C ilustrativos que se unen a TfR se establecen en las
5 SEQ ID NO:121-125. Los clones de CH2D ilustrativos que se unen a TfR se establecen en las SEQ ID NO:126-130. Los clones de CH2E3 ilustrativos que se unen a TfR se establecen en las SEQ ID NO:131-135.

Ejemplo 13. Métodos.

10

Generación de bibliotecas de expresión en fagos

[0543] Se sintetizó una plantilla de ADN para codificar la secuencia de Fc humana de tipo salvaje y se incorporó en un vector de fagémido. El vector de fagémido contuvo una secuencia líder ompA o pelB, el inserto de Fc se fusionó a etiquetas de epítipo c-Myc y
15 6xHis (SEQ ID NO:303) y un codón de terminación ámbar seguido de una proteína pIII de recubrimiento M13.

[0544] Se generaron cebadores con tricodones “NNK” en las posiciones deseadas para las modificaciones, donde N es cualquier base de ADN (es decir, A, C, G o T) y K es G o T. De manera alternativa, se utilizaron cebadores para una aleatorización “leve”, donde se
20 utilizó una mezcla de bases correspondiente al 70 % de base de tipo salvaje y 10 % de cada una de las otras tres bases para cada posición de aleatorización. Se generaron bibliotecas mediante amplificación PCR de fragmentos de la región Fc correspondientes a las regiones de aleatorización y luego se ensamblaron mediante el uso de cebadores de terminación que contuvieron sitios de restricción *SfiI*, luego se digirieron con *SfiI* y se ligaron
25 a los vectores de fagémidos. De manera alternativa, se utilizaron cebadores para llevar a cabo una mutagénesis de Kunkel. Los productos ligados o productos de Kunkel se transformaron en células de *E. coli* electrocompetentes de la cepa TG1 (obtenida de Lucigen®). Las células de *E. coli* se infectaron con un fago auxiliar M13K07 luego de la recuperación y se cultivaron durante la noche, después de lo cual se precipitaron los fagos
30 de la biblioteca con 5 % de PEG/NaCl, se resuspendieron en 15 % de glicerol en PBS y se congelaron hasta usarse. Los tamaños de biblioteca típicos variaron de alrededor de 10^9 a alrededor de 10^{11} transformantes. Se expresaron dímeros de Fc en fagos mediante el emparejamiento entre Fc fusionado a pIII y Fc soluble no unido a pIII (este último se generó debido al codón de terminación ámbar antes de pIII).

Generación de bibliotecas de expresión en levadura

[0545] Se sintetizó una plantilla de ADN para codificar la secuencia de Fc humana de tipo salvaje y se incorporó en un vector de expresión de levadura. Para las bibliotecas de CH2 y CH3, los polipéptidos Fc se expresaron en la proteína de la pared celular de Aga2p. Ambos vectores contuvieron péptidos líder prepro con una secuencia de escisión Kex2 y una etiqueta de epítipo c-Myc fusionada al extremo del Fc.

[0546] Se ensamblaron las bibliotecas de expresión de levadura con métodos similares a los descritos para las bibliotecas de fagos, salvo que la amplificación de fragmentos se llevó a cabo con cebadores que contienen extremos homólogos para el vector. Se sometió a electroporación levadura electrocompetente recién preparada (es decir, cepa EBY100) con un vector linealizado y se ensamblaron los insertos de biblioteca. El experto en la técnica conoce los métodos de electroporación. Luego de la recuperación en el medio SD-CAA selectivo, se cultivó la levadura hasta confluencia y se separó dos veces, luego se indujo para determinar la expresión de proteínas mediante la transferencia a un medio SG-CAA. Los tamaños de biblioteca típicos variaron de alrededor de 10^7 a alrededor de 10^9 transformantes. Se formaron dímeros de Fc mediante el emparejamiento de monómeros de Fc expresados de forma adyacente.

Métodos generales para la selección de fagos

[0547] Los métodos de fagos se adaptaron de Phage Display: A Laboratory Manual (Barbas, 2001). Pueden obtenerse detalles del protocolo adicionales a partir de esta referencia.

Métodos de clasificación de placas

[0548] Se recubrieron placas de microtitulación MaxiSorp® (típicamente 1-10 $\mu\text{g/mL}$) con el antígeno durante la noche a 4 °C. Se agregaron las bibliotecas de fagos en cada pocillo y se incubaron durante la noche para la unión. Se lavaron los pocillos de microtitulación de forma extensiva con PBS con Tween® 20 al 0,05 % (PBST) y los fagos unidos se eluyeron mediante la incubación de los pocillos con ácido (típicamente HCl 50 mM con KCl 500 mM o glicina 100 mM, pH 2,7) durante 30 minutos. Se neutralizaron los fagos eluidos con Tris 1 M (pH 8) y se amplificaron con el uso de células TG1 y fagos auxiliares M13/KO7 y se cultivaron durante la noche a 37 °C en medio 2YT con 50 $\mu\text{g/mL}$ de carbenicilina y 50 $\mu\text{g/mL}$ de kanamicina. Las titulaciones de fagos eluidos de un pocillo que contenía el

objetivo se compararon con las titulaciones de fagos recuperados de un pocillo que no contenía el objetivo para evaluar el enriquecimiento. Se aumentó la rigurosidad de selección mediante una disminución posterior del tiempo de incubación durante la unión y un aumento del tiempo de lavado y cantidad de lavados.

5

Métodos de clasificación de perlas

[0549] El antígeno se biotiniló a través de aminas libres mediante el uso de NHS-PEG4-Biotin (obtenida de Pierce™). Para las reacciones de biotinilación, se utilizó un reactivo de biotina con exceso molar de 3 a 5 veces en PBS. Las reacciones se inactivaron con Tris luego de diálisis extensiva en PBS. Se inmovilizó el antígeno biotinilado en perlas magnéticas recubiertas con estreptavidina (es decir, perlas de estreptavidina M280 obtenidas de Thermo Fisher). Las bibliotecas de expresión de fagos se incubaron con las perlas recubiertas con el antígeno a temperatura ambiente durante 1 hora. Luego se retiraron los fagos no unidos y las perlas se lavaron con PBST. Los fagos unidos se eluyeron mediante incubación con HCl 50 mM con KCl 500 mM (o glicina 0,1 M, pH 2,7) durante 30 minutos y luego se naturalizó y se propagó como se describió anteriormente para la clasificación de placas.

[0550] Luego de tres a cinco rondas de cribado, se analizaron los clones simples mediante la expresión de Fc en fagos o de forma soluble en el periplasma de *E. coli*. El experto en la técnica conoce dichos métodos de expresión. Los sobrenadantes de fagos individuales o extractos periplásmicos se expusieron a placas ELISA bloqueadas recubiertas con antígeno o un control negativo y se detectaron posteriormente mediante el uso de anti-Fc de cabra conjugado con HRP (obtenido de Jackson ImmunoResearch) para los extractos periplásmicos o anti-M13 (GE Healthcare) para fagos, y luego se desarrollaron con un reactivo de TMB (obtenido de Thermo Fisher). Los pocillos con valores de OD₄₅₀ mayores a alrededor de 5 veces el fondo se consideraron clones positivos y se secuenciaron, luego de lo cual algunos clones se expresaron como un fragmento Fc soluble o se fusionaron a fragmentos Fab.

30 Métodos generales para la selección de levadura

Métodos de clasificación de perlas (clasificación de células activadas por magnetismo (MACS))

[0551] Se llevaron a cabo selecciones de MACS y FACS de forma similar a la descritas en Ackerman, et ál. 2009 *Biotechnol. Prog.* 25(3), 774. Se etiquetaron perlas magnéticas

de estreptavidina (por ejemplo, perlas de estreptavidina M-280 de ThermoFisher) con antígeno biotinilado y se incubaron con levadura (típicamente 5-10x de diversidad de biblioteca). Se retiró la levadura no unida, se lavaron las perlas y la levadura unida se cultivó en medio selectivo y se indujo para rondas posteriores de selección.

5 *Métodos de clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS)*

[0552] Se etiquetó la levadura con un anticuerpo anti-c-Myc para monitorear la expresión y el antígeno biotinilado (la concentración varió dependiendo de la ronda de clasificación). En algunas modalidades, el antígeno se mezcló previamente con estreptavidina Alexa Fluor® 647 con el fin de potenciar la aidez de la interacción. En otros experimentos, el antígeno biotinilado se detectó luego de la unión y el lavado con estreptavidina-Alexa Fluor® 647. La levadura de singlete con unión se clasificó con un clasificador celular FACS Aria III. La levadura clasificada se cultivó en un medio selectivo, luego se indujo para rondas de selección posteriores.

[0553] Luego de alcanzarse una población de levadura enriquecida, la levadura se colocó en placas de agar SD-CAA y se cultivaron colonias simples y se indujeron para determinar la expresión, luego se etiquetaron como se describió anteriormente para determinar su propensión a la unión con el objetivo. Los clones simples positivos se secuenciaron posteriormente para la unión al antígeno, luego de lo cual algunos clones se expresaron como un fragmento Fc soluble o fusionados a fragmentos Fab.

20

Métodos generales para el análisis

Análisis mediante ELISA

[0554] Los clones se seleccionaron de los resultados del cribado y se cultivaron en pocillos individuales de placas de pocillos profundos de 96 pocillos. Los clones se indujeron para determinar la expresión periplásmica a través de medio de autoinducción (obtenido de EMD Millipore) o se infectaron con fagos auxiliares para determinar la expresión en fagos de las variantes de Fc individuales en fagos. Las placas ELISA se recubrieron con un antígeno, típicamente a 0,5 mg/mL durante la noche, luego se bloquearon con BSA al 1 % antes de la adición de fagos o extractos periplásmicos. Luego de 1 hora de incubación y lavado de proteínas no unidas, se agregó el anticuerpo secundario conjugado con HRP (es decir, anti-Fac o anti-M13 para Fc soluble o Fc de expresión en fagos, respectivamente) y se incubó durante 30 minutos. Las placas se lavaron nuevamente y luego se desarrollaron con un reactivo TMB y se inactivaron con ácido sulfúrico 2 N. La absorbancia a 450 nm se

cuantificó mediante el uso de un lector de placas (BioTek®) y las curvas de unión se graficaron mediante el uso del software Prism donde correspondiera. En algunos ensayos, la transferrina soluble u otro competidor se agregó durante la etapa de unión, típicamente con un exceso molar significativo.

5

Análisis mediante citometría de flujo

[0555] Los polipéptidos Fc variantes (expresados en fagos, en extractos periplásmicos o de forma soluble como fusiones a fragmentos Fab) se agregaron a las células en placas de fondo en V de 96 pocillos (alrededor de 100 000 células por pocillo en PBS+BSA al 1 % (PBSA)) y se incubaron en 4 °C durante 1 hora. Las placas se hicieron girar posteriormente y se retiró el medio, y luego se lavaron las células una vez con PBSA. Las células se resuspendieron en PBSA con un anticuerpo secundario (típicamente Alexa Fluor® 647 de anti-IgG humana de cabra (obtenido de Thermo Fisher)). Luego de 30 minutos, las placas se hicieron girar y se retiró el medio, las células se lavaron 1-2 veces con PBSA y luego se leyeron las placas en un citómetro de flujo (es decir, un citómetro de flujo FACSCanto™ II). Se calcularon las medianas de los valores de fluorescencia para cada afección mediante el uso del software FlowJo y las curvas de unión se graficaron con el software Prism.

20

Ejemplo 14. Métodos de espectrometría de masas y lipidómica

Preparación de muestras para espectrometría de masas

[0556] Las células (por ejemplo, macrófagos derivados de médula ósea (BMDM)) se lavaron de manera abundante con PBS, y las especies de BMP se extrajeron con metanol adicionado con BMP(14:0_14:0) como estándar interno. Después de la extracción de especies de BMP con metanol, las muestras se mezclaron con vórtice y se centrifugaron a 14 000 rpm y 4 °C durante 20 minutos. Luego se transfirieron los sobrenadantes a recipientes de cromatografía líquida - espectrometría de masas para un análisis adicional.

[0557] Las muestras de tejido se pesaron (por ejemplo, 20 mg) y luego se homogeneizaron en metanol (200 µL) adicionado con BMP(14:0_14:0) mediante el uso de un homogeneizador TissueLyser (Qiagen, Valencia, CA, EUA). Los homogenatos se hicieron girar a 14 000 rpm durante 20 minutos a 4 °C. Luego se transfirieron los sobrenadantes a recipientes de cromatografía líquida - espectrometría de masas para un análisis adicional.

[0558] Los biofluidos (10 µL) se precipitaron en proteínas con metanol (100 µL) que

contenía BMP(14:0_14:0) y se hicieron girar a 14 000 rpm durante 20 minutos, 4 °C. Luego se transfirieron los sobrenadantes a recipientes de cromatografía líquida - espectrometría de masas para un análisis adicional.

5 Procedimientos de lipidómica

[0559] Procedimientos generales: Los grupos de animales y las recolecciones de muestras fueron aleatorios durante la extracción de lípidos.

[0560] Extracción de lípidos y metabolitos de la orina: Se recolectó orina en tubos Thermo Matrix y se almacenó a -80 °C. La orina se descongeló sobre hielo y se centrifugó a 1000 xg durante 10 minutos a 4 °C para retirar los particulados. Se transfirieron 10 µL de orina a un tubo Eppendorf Safe-Lock de 2,0 mL (Eppendorf n.º de cat. 022600044) y 200 µL de metanol de grado MS helado con mezcla de estándar interno (2 µL por muestra). Las muestras se sometieron a vórtice durante 5 minutos a 2500 rpm. Las muestras se centrifugaron durante 20 minutos a 21 000 xg a 4 °C. El sobrenadante de metanol se transfirió a recipientes de vidrio de LCMS en una placa de 96 pocillos. Las muestras se almacenaron a -80 °C hasta someterse a LCMS.

[0561] Extracción de lípidos y metabolitos del plasma: Las muestras de plasma se descongelaron sobre hielo. Se transfirió plasma/suero (10 µL) u orina (20 µL) a un tubo Eppendorf Safe-Lock de 2 mL (Eppendorf n.º de cat. 022600044). El metanol de grado MS helado (200 µL) con mezcla de estándar interno (2 µL por muestra) se sometió a vórtice durante 5 minutos y luego se centrifugó durante 20 minutos a 21 000 xg a 4 °C. El sobrenadante de metanol se transfirió a recipientes de vidrio de LCMS en placas de 96 pocillos para análisis de lipidómica y metabolómica. Las muestras se almacenaron a -80 °C hasta someterse a LCMS.

[0562] Extracción de lípidos y metabolitos del cerebro: Se transfirió corteza frontal del cerebro de ratón (18-20 mg) a un tubo Eppendorf Safe-Lock de 2 mL (Eppendorf n.º de cat. 022600044) que se mantuvo en hielo seco con una perla de acero inoxidable de 5 mm (QIAGEN n.º de cat. 69989). Se agregó el metanol de grado MS helado (400 µL) con mezcla de estándar interno (2 µL por muestra). Los tejidos se homogeneizaron con TissueLyser durante 30 segundos a 25 Hz en el cuarto frío y luego se centrifugaron durante 20 minutos a 21 000 xg a 4 °C (la perla se dejó en el tubo). El sobrenadante de metanol se transfirió a nuevos recipientes Eppendorf de 1,5 mL y se dejó a -20 °C durante 1 hora para permitir una precipitación adicional de proteínas. Los recipientes se centrifugaron durante 20 minutos a 21 000 xg a 4 °C y el sobrenadante de metanol se transfirió en recipientes de vidrio de

LCMS para el análisis de lipidómica y metabolómica. Las muestras se almacenaron a -80 °C hasta someterse a LCMS.

[0563] Extracción de lípidos y metabolitos del LCR: Se recolectó LCR de ratones con el método de pipeta. Se agregó LCR (5 µL) a MeOH de grado MS helado (100 µL) con mezcla de estándar interno (0,2 µL por muestra) directamente en recipientes de vidrio. Los recipientes de vidrio con LCR y MeOH se sometieron a vórtice durante 5 minutos y se sometieron directamente a LCMS.

[0564] Extracción de lípidos y metabolitos del hígado: se transfirió hígado (20 mg) a un tubo Eppendorf Safe-Lock de 2 mL (Eppendorf n.º de cat. 022600044) que se mantuvo en hielo seco con una perla de acero inoxidable de 5 mm (QIAGEN n.º de cat. 69989). Se agregó luego metanol de grado MS helado (400 µL) con mezcla de estándar interno (2 µL por muestra). Los tejidos se homogeneizaron con Tissuelyser durante 30 segundos a 25 Hz (en el cuarto frío) y se centrifugaron durante 20 minutos a 21 000 xg a 4 °C (la perla se dejó en el tubo). El sobrenadante de metanol se transfirió a nuevos recipientes Eppendorf de 1,5 mL y se dejó a -20 °C durante tres horas para permitir una precipitación adicional de proteínas. Los recipientes se centrifugaron durante 20 minutos a 21 000 xg a 4 °C y el sobrenadante de metanol se transfirió a recipientes de vidrio de LCMS para el análisis de lipidómica y metabolómica. Las muestras se almacenaron a -80 °C hasta someterse a LCMS.

Cromatografía líquida-espectrometría de masas

[0565] Se llevaron análisis de BMP mediante cromatografía líquida (sistema Shimadzu Nexera X2, Shimadzu Scientific Instrument, Columbia, MD, EUA) acoplada a espectrometría de masas por electropulverización (Sciex 6500+ QTRAP, Sciex, Framingham, MA, EUA). Para cada análisis, se inyectaron 5 µL de muestra en una columna de 1,7 µm de amida BEH, 2,1×150 mm (Waters Corporation, Milford, Massachusetts, EUA) con una velocidad de flujo de 0,40 mL/min a 55 °C. La fase móvil A consistió en agua con formiato de amonio 10 mM + ácido fórmico al 0,1 %. La fase móvil B consistió en acetonitrilo con ácido fórmico al 0,1 %. El gradiente se programó de la siguiente manera: 0,0–1,0 min. a 95 % de B; 1,0–7,0 min. a 50 % de B; 7,0–7,1 min. a 95 % de B; y 7,1–12,0 min. a 95 % de B. Se llevó a cabo una ionización por electropulverización en el modo de ion negativo con la siguiente configuración: gas cortina a 25; gas de colisión a medio; voltaje de aspersión de iones a -4500; temperatura a 600; gas de fuente de iones 1 a 50; gas de fuente de iones 2 a 60; energía de colisión a -50, CXP a -15; DP a -60; EP a -10; tiempo de

permanencia a 20 ms. La adquisición de datos se llevó a cabo mediante el uso de Analyst 1.6.3 (Sciex) en el modo de monitoreo de reacciones múltiples (MRM). Las especies de BMP se detectaron mediante el uso de los parámetros de transición de MRM indicados en la Tabla 3. Las especies de BMP se cuantificaron mediante el uso de BMP(14:0_14:0) como estándar interno. Las especies de BMP se identificaron en función de sus tiempos de retención y propiedades de MRM. La cuantificación se llevó a cabo mediante el uso de MultiQuant 3.02 (Sciex) después de la corrección de superposición isotópica. Las especies de BMP se normalizaron ya sea a una cantidad total de proteína, peso del tejido o volumen de biofluidos. La concentración de proteínas se midió con el ensayo de ácido bicinconínico (BCA) (Pierce, Rockford, IL, EUA).

[0566] Se usaron transiciones m/z de ion precursor (Q1) $[M-H]^-$ y producto (Q3) para medir las especies de BMP. Las especies de BMP se identificaron a partir de los valores Q1 y Q3 de acuerdo con la Tabla 3. Se utilizan abreviaturas en la presente para hacer referencia a especies con dos cadenas laterales, donde las estructuras de las cadenas laterales de ácido graso se indican dentro de paréntesis en el formato de BMP (por ejemplo, BMP(18:1_18:1)). Los números siguen el formato estándar de notación de ácidos grasos de la cantidad de átomos de carbono de ácido graso:cantidad de enlaces dobles. Se usa el prefijo “e-” para indicar la presencia de un sustituyente de éter de alquilo (por ejemplo, BMP(16:0e_18:0)), donde el oxígeno de carbonilo de la cadena lateral de ácido graso se reemplaza con dos átomos de hidrógeno. De manera alternativa, puede hacerse referencia a la especie de BMP de forma genérica de acuerdo con la cantidad total de átomos de carbono:cantidad total de enlaces dobles; las especies que tienen valores similares pueden distinguirse según sus valores Q1 y Q3.

Tabla 3. Especies de BMP y parámetros de transición de MRM

Nombre	Átomos de carbono totales : insaturaciones totales	Q1	Q3
BMP(14:0_14:0)	BMP(28:0)	665,5	227,2
BMP(14:0_16:0)	BMP(30:0)	693,6	255,2
BMP(14:0_16:1)	BMP(30:1)	691,6	253,2
BMP(14:0_18:0)	BMP(32:0)	721,6	283,2
BMP(14:0_18:1)	BMP(32:1)	719,6	281,2

BMP(14:0_18:2)	BMP(32:2)	717,6	279,2
BMP(14:0_18:3)	BMP(32:3)	715,6	277,2
BMP(14:0_20:1)	BMP(34:1)	747,6	309,2
BMP(14:0_20:2)	BMP(34:2)	745,6	307,2
BMP(14:0_20:3)	BMP(34:3)	743,6	305,2
BMP(14:0_20:4)	BMP(34:4)	741,6	303,2
BMP(14:0_20:5)	BMP(34:5)	739,6	301,2
BMP(14:0_22:4)	BMP(36:4)	769,6	331,2
BMP(14:0_22:5)	BMP(36:5)	767,6	329,2
BMP(14:0_22:6)	BMP(36:6)	765,6	327,2
BMP(16:0_16:0)	BMP(32:0)	721,6	255,2
BMP(16:0_16:1)	BMP(32:1)	719,6	253,2
BMP(16:0_18:0)	BMP(34:0)	749,6	283,2
BMP(16:0_18:1)	BMP(34:1)	747,6	281,2
BMP(16:0_18:2)	BMP(34:2)	745,6	279,2
BMP(16:0_18:3)	BMP(34:3)	743,6	277,2
BMP(16:0_20:1)	BMP(36:1)	775,6	309,2
BMP(16:0_20:2)	BMP(36:2)	773,6	307,2
BMP(16:0_20:3)	BMP(36:3)	771,6	305,2
BMP(16:0_20:4)	BMP(36:4)	769,6	303,2
BMP(16:0_20:5)	BMP(36:5)	767,6	301,2
BMP(16:0_22:4)	BMP(38:4)	797,6	331,2
BMP(16:0_22:5)	BMP(38:5)	795,6	329,2
BMP(16:0_22:6)	BMP(38:6)	793,6	327,2
BMP(16:1_16:1)	BMP(32:2)	717,6	253,2
BMP(16:1_18:0)	BMP(34:1)	747,6	283,2
BMP(16:1_18:1)	BMP(34:2)	745,6	281,2
BMP(16:1_18:2)	BMP(34:3)	743,6	279,2
BMP(16:1_18:3)	BMP(34:4)	741,6	277,2
BMP(16:1_20:1)	BMP(36:2)	773,6	309,2
BMP(16:1_20:2)	BMP(36:3)	771,6	307,2
BMP(16:1_20:3)	BMP(36:4)	769,6	305,2
BMP(16:1_20:4)	BMP(36:5)	767,6	303,2
BMP(16:1_20:5)	BMP(36:6)	765,6	301,2
BMP(16:1_22:4)	BMP(38:5)	795,6	331,2
BMP(16:1_22:5)	BMP(38:6)	793,6	329,2

BMP(16:1_22:6)	BMP(38:7)	791,6	327,2
BMP(16:0e_14:0)	BMP(40:0)	679,5	227,2
BMP(16:0e_16:0)	BMP(32:0)	707,6	255,2
BMP(16:0e_18:0)	BMP(34:0)	735,6	283,2
BMP(16:0e_18:1)	BMP(34:1)	733,6	281,2
BMP(16:0e_18:2)	BMP(34:2)	731,6	279,2
BMP(16:0e_18:3)	BMP(34:3)	729,6	277,2
BMP(16:0e_20:3)	BMP(36:3)	757,6	305,2
BMP(16:0e_20:4)	BMP(36:4)	755,6	303,2
BMP(16:0e_20:5)	BMP(36:5)	753,6	301,2
BMP(16:0e_22:4)	BMP(38:4)	783,6	331,2
BMP(16:0e_22:6)	BMP(38:6)	779,6	327,2
BMP(16:1e_14:0)	BMP(30:1)	677,5	227,2
BMP(16:1e_16:0)	BMP(32:1)	705,6	255,2
BMP(16:1e_18:0)	BMP(34:1)	733,6	283,2
BMP(16:1e_18:1)	BMP(34:2)	731,6	281,2
BMP(16:1e_18:2)	BMP(34:3)	729,6	279,2
BMP(16:1e_18:3)	BMP(34:4)	727,6	277,2
BMP(16:1e_20:3)	BMP(36:4)	755,6	305,2
BMP(16:1e_20:4)	BMP(36:5)	753,6	303,2
BMP(16:1e_20:5)	BMP(36:6)	751,6	301,2
BMP(16:1e_22:4)	BMP(38:5)	781,6	331,2
BMP(16:1e_22:6)	BMP(38:7)	777,6	327,2
BMP(18:0_18:0)	BMP(36:0)	777,6	283,2
BMP(18:0_18:1)	BMP(36:1)	775,6	281,2
BMP(18:0_18:2)	BMP(36:2)	773,6	279,2
BMP(18:0_18:3)	BMP(36:3)	771,6	277,2
BMP(18:0_20:1)	BMP(38:1)	803,6	309,2
BMP(18:0_20:2)	BMP(38:2)	801,6	307,2
BMP(18:0_20:3)	BMP(38:3)	799,6	305,2
BMP(18:0_20:4)	BMP(38:4)	797,6	303,2
BMP(18:0_20:5)	BMP(38:5)	795,6	301,2
BMP(18:0_22:4)	BMP(40:4)	825,6	331,2
BMP(18:0_22:5)	BMP(40:5)	823,6	329,2
BMP(18:0_22:6)	BMP(40:6)	821,6	327,2
BMP(18:1_18:1)	BMP(36:2)	773,6	281,2

BMP(18:1_18:2)	BMP(36:3)	771,6	279,2
BMP(18:1_18:3)	BMP(36:4)	769,6	277,2
BMP(18:1_20:1)	BMP(38:2)	801,6	309,2
BMP(18:1_20:2)	BMP(38:3)	799,6	307,2
BMP(18:1_20:3)	BMP(38:4)	797,6	305,2
BMP(18:1_20:4)	BMP(38:5)	795,6	303,2
BMP(18:1_20:5)	BMP(38:6)	793,6	301,2
BMP(18:1_22:4)	BMP(40:5)	823,6	331,2
BMP(18:1_22:5)	BMP(40:6)	821,6	329,2
BMP(18:1_22:6)	BMP(40:7)	819,6	327,2
BMP(18:2_18:2)	BMP(36:4)	769,6	279,2
BMP(18:2_18:3)	BMP(36:5)	767,6	277,2
BMP(18:2_20:1)	BMP(38:3)	799,6	309,2
BMP(18:2_20:2)	BMP(38:4)	797,6	307,2
BMP(18:2_20:3)	BMP(38:5)	795,6	305,2
BMP(18:2_20:4)	BMP(38:6)	793,6	303,2
BMP(18:2_20:5)	BMP(38:7)	791,6	301,2
BMP(18:2_22:4)	BMP(40:6)	821,6	331,2
BMP(18:2_22:5)	BMP(40:7)	819,6	329,2
BMP(18:2_22:6)	BMP(40:8)	817,6	327,2
BMP(18:3_18:3)	BMP(36:6)	765,6	277,2
BMP(18:3_20:1)	BMP(38:4)	797,6	309,2
BMP(18:3_20:2)	BMP(38:5)	795,6	307,2
BMP(18:3_20:3)	BMP(38:6)	793,6	305,2
BMP(18:3_20:4)	BMP(38:7)	791,6	303,2
BMP(18:3_20:5)	BMP(38:8)	789,6	301,2
BMP(18:3_22:4)	BMP(40:7)	819,6	331,2
BMP(18:3_22:5)	BMP(40:8)	817,6	329,2
BMP(18:3_22:6)	BMP(40:9)	815,6	327,2
BMP(18:0e_14:0)	BMP(32:0)	707,5	227,2
BMP(18:0e_16:0)	BMP(34:0)	735,6	255,2
BMP(18:0e_18:0)	BMP(36:0)	763,6	283,2
BMP(18:0e_18:1)	BMP(36:1)	761,6	281,2
BMP(18:0e_18:2)	BMP(36:2)	759,6	279,3
BMP(18:0e_18:3)	BMP(36:3)	757,6	277,2
BMP(18:0e_20:3)	BMP(38:3)	785,6	305,2

BMP(18:0e_20:4)	BMP(38:4)	783,6	303,2
BMP(18:0e_20:5)	BMP(38:5)	781,6	301,2
BMP(18:0e_22:4)	BMP(40:4)	811,6	331,3
BMP(18:0e_22:6)	BMP(40:6)	807,6	327,3
BMP(18:1e_14:0)	BMP(32:1)	705,5	227,2
BMP(18:1e_16:0)	BMP(34:1)	733,6	255,2
BMP(18:1e_18:0)	BMP(36:1)	761,6	283,2
BMP(18:1e_18:1)	BMP(36:2)	759,6	281,2
BMP(18:1e_18:2)	BMP(36:3)	757,6	279,3
BMP(18:1e_18:3)	BMP(36:4)	755,6	277,2
BMP(18:1e_20:3)	BMP(38:4)	783,6	305,2
BMP(18:1e_20:4)	BMP(38:5)	781,6	303,2
BMP(18:1e_20:5)	BMP(38:6)	779,6	301,2
BMP(18:1e_22:4)	BMP(40:5)	809,6	331,3
BMP(18:1e_22:6)	BMP(40:7)	805,6	327,3
BMP(20:3_20:3)	BMP(40:6)	821,6	305,2
BMP(20:3_20:4)	BMP(40:7)	819,6	303,2
BMP(20:3_20:5)	BMP(40:8)	817,6	301,2
BMP(20:3_22:4)	BMP(42:7)	847,6	331,3
BMP(20:3_22:5)	BMP(42:8)	845,6	329,3
BMP(20:3_22:6)	BMP(42:9)	843,6	327,3
BMP(20:4_20:4)	BMP(40:8)	817,6	303,2
BMP(20:4_20:5)	BMP(40:9)	815,6	301,2
BMP(20:4_22:4)	BMP(42:8)	845,6	331,3
BMP(20:4_22:5)	BMP(42:9)	843,6	329,3
BMP(20:4_22:6)	BMP(42:10)	841,6	327,3
BMP(20:5_20:5)	BMP(40:10)	813,6	301,2
BMP(20:5_22:4)	BMP(42:9)	843,6	331,3
BMP(20:5_22:5)	BMP(42:10)	841,6	329,3
BMP(20:5_22:6)	BMP(42:11)	839,6	327,3
BMP(22:4_22:4)	BMP(44:8)	873,6	331,3
BMP(22:4_22:5)	BMP(44:9)	871,6	329,3
BMP(22:4_22:6)	BMP(44:10)	869,6	327,3
BMP(22:6_22:6)	BMP(44:12)	865,6	327,2

Ejemplo 15. Tratamiento de BMDM de ratones con inactivación de *GRN*

- [0567]** Se derivaron BMDM *in vitro* de médula ósea de ratones de tipo salvaje y con inactivación de *GRN* mediante el uso de un método similar al de Trouplin et ál. *J. Vis. Exp.* 2013 (81) 50966, pero se agregó M-LCR recombinante directamente al medio de cultivo celular para inducir la diferenciación. Los BMDM se trataron durante 72 horas con 50 nM de las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 11 y Fusión 12 de la Tabla 1 o control de RSV (virus sincitial respiratorio). Se extrajeron lípidos celulares a través de la adición de metanol con una mezcla de estándar interno y se midió la abundancia de BMP mediante cromatografía líquida - espectrometría de masas (LC-MS/MS) en un Q-trap 6500 (SCIEX). Tal como se muestra en las FIGS. 13A y 13B, la abundancia de BMP(18:1_18:1) y BMP(20:4_20:4) fue mayor en BMDM de ratones con inactivación de *GRN* no tratados en comparación con el control de tipo salvaje. Además, en experimentos separados (tres repeticiones técnicas), como se muestra en las FIGS. 13C y 13D, la abundancia de BMP total y BMP(18:1_18:1) disminuyó en los BMDM con inactivación de *GRN* que se trataron con progranulina recombinante (Adipogen) o progranulina expresada por lentivirus.
- [0568]** Las especies de BMP que se halló que tenían una mayor abundancia en BMDM derivados de animales con inactivación de granulina (*GRN*) se muestran en la Tabla 4. Las especies que presentaron aumentos particularmente marcados de la abundancia se marcan con un asterisco.

20 Tabla 4. Especies con BMP elevado en BMDM de ratones con *GRN* KO

BMP
BMP(16:0_18:1)
BMP(16:0_18:2)
BMP(18:0_18:0)
BMP(18:0_18:1)
BMP(18:1_18:1)*
BMP(16:0_20:3)
BMP(18:1_20:2)
BMP(18:0_20:4)*
BMP(16:0_22:5)
BMP(20:4_20:4)*
BMP(22:6_22:6)*
BMP(20:4_20:5)

BMP
BMP(18:2_18:2)
BMP(16:0_20:4)
BMP(18:0_18:2)
BMP(18:0e_22:6)
BMP(18:1e_20:4)
BMP(20:4_22:6)*
BMP(18:0e_20:4)
BMP(18:2_20:4)
BMP(18:1_22:6)*
BMP(18:1_20:4)*
BMP(18:0_22:6)*

Ejemplo 16. Tratamiento de ratones con *GRN* KO para el rescate de fenotipos.

[0569] Fusión 11 y Fusión 12 de la Tabla 1 se inyectaron a través de la vena de la cola en ratones con *GRN* WT y *GRN* KO para determinar si era posible el rescate de fenotipos de *GRN* KO periféricos y del SNC después de una única inyección de 50 mg/kg.

Materiales y métodos

[0570] Animales: Los ratones utilizados para este estudio se obtuvieron de JAX Laboratories y consistieron en 21 ratones con *GRN* KO (n=12 machos, n=9 hembras) y 10 ratones con *GRN* WT (n=5 machos, n=5 hembras) de 3-5 meses (Tabla 5). Los animales se alojaron en condiciones estándar en el vivario con acceso a comida y agua a voluntad al menos 7 días antes del inicio del estudio.

Tabla 5. Diseño del estudio/grupos experimentales

Genotipo	Proteína	Puntos temporales (h)	n/grupo
<i>GRN</i> KO	Vehículo	0,5, 24, 48, 96	4
	Vehículo	0,5, 24	4
	Fusión 11	0,5, 24, 48, 96	5
	Fusión 11	0,5, 24	4
	Fusión 12	0,5, 24, 48, 96	4

Genotipo	Proteína	Puntos temporales (h)	n/grupo
WT	Vehículo	0,5, 24, 48, 96	5
	Vehículo	0,5, 24	5

[0571] Asignación de los animales a los grupos experimentales: Los ratones se distribuyeron de forma igual en cada grupo experimental para compensar las diferencias entre camadas, género y edad.

5 **[0572]** Formulación: Las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 11 y Fusión 12 se usaron a 5,05 mg/mL y 4,90 mg/mL de solución salina, respectivamente.

[0573] Procedimientos generales: Las condiciones experimentales se alternaron al recolectar tejidos. Los grupos de animales y las recolecciones de muestras fueron aleatorios.

10 **[0574]** Procedimientos *in vivo*: Se llevaron a cabo extracciones submandibularon mediante el uso de lancetas de 3 mm (lancetas para animales GoldenRod). Recolección de plasma: Se recolectó sangre en tubos de EDTA (Sarstedt Microvette 500 K3E, n.º de ref. 201341102) y se invirtieron lentamente 10 veces. Para volúmenes pequeños de sangre (<100 µL), la sangre se recolectó en tubos de EDTA con tubos capilares (Sarstedt
15 Microvette 100 K3E, n.º de ref. 201278100). Los tubos de EDTA se almacenaron inmediatamente en el refrigerador hasta la preparación de plasma. El tiempo entre el almacenamiento y la preparación no superó 1 hora. El tiempo de recolección y el tiempo de procesamiento se siguieron de manera congruente. Los tubos se centrifugaron a 12 700 rpm durante 7 minutos a 4 °C. El plasma (capa superior) se transfirió a tubos Matrix de 0,6
20 mL con tapón de goma. Los tubos Matrix se congelaron de forma instantánea antes de transferirlos a -80 °C. Recolección de orina: La orina se recolectó al sujetar a los ratones en un bote pesador de plástico, lo que hizo que la mayoría de ellos expulsara la orina hacia el bote pesador. La orina se recolectó con una pipeta p200, se transfirió a tubos Matrix de 0,6 mL con sello de goma. Los tubos Matrix se congelaron de forma instantánea antes de
25 transferirlos a -80 °C.

[0575] Procedimientos de recolección de tejidos/fluidos terminales: Los animales se sometieron a anestesia profunda mediante inyección intraperitoneal (i.p.) de Avertina al 2,5 % y luego se recolectaron tejidos en el orden descrito a continuación:

30 **[0576]** Muestras recolectadas antes de la perfusión intracardíaca: Recolección de plasma: La sangre se extrajo mediante punción cardíaca con una jeringa de tuberculina

- Terumo de 1 mL acoplada a una jeringa de calibre 25 (n.º de ref. SS-01T2516) (no preacondicionada con EDTA). Después se desprendió la aguja y la sangre se transfirió a tubos de EDTA (Sarstedt Microvette 500 K3E, n.º de ref. 201341102) que se invirtieron lentamente 10 veces. Después de este procedimiento, se continuaron los métodos
- 5 posteriores a la recolección como se describió anteriormente en Procedimientos *in vivo*.
 Recolección de líquido cefalorraquídeo: Las tres capas musculares de la parte posterior del cuello se pelaron con tijeras pequeñas y fórceps, el área que rodea la cisterna magna revelada se cauterizó para evitar la contaminación con sangre, y la membrana se limpió con un hisopo Q-tip y PBS. La membrana se secó y la cisterna magna se perforó con la punta
- 10 de una aguja de jeringa de insulina de calibre 28 ½. Luego se colocó rápidamente una pipeta p20 sobre el hueco recién perforado y se succionó LCR hacia la punta de la pipeta. El LCR se colocó en un tubo Eppendorf Lo-bind de 0,5 mL y se hizo girar a 12 700 rpm durante 7 minutos a 4 °C. El sobrenadante de LCR se transfirió a un tubo Eppendorf Lo-bind de 0,5 mL y se congeló de forma instantánea antes de transferirlo a -80 °C.
- 15 **[0577]** Para las muestras tomadas después de la perfusión intracardíaca, los animales se sometieron a perfusión transcardíaca durante 5 minutos con PBS helado mediante el uso de una bomba peristáltica (Gilson Inc. Minipuls Evolution F110701) a una velocidad de flujo de 5 mL/minuto. Para los tejidos que pudieran disecarse y pesarse previamente durante la recolección, las muestras se colocaron directamente en tubos Eppendorf de 1,5
- 20 mL. Los tejidos se tomaron en el siguiente orden: Hígado (después de perfusión): se recolectaron alrededor de 150 mg de hígado en tubos Eppendorf de 1,5 mL. Los tubos Eppendorf se congelaron de forma instantánea antes de transferirlos a -80 °C. Ojo: se retiraron ambos ojos, sin músculo ni nervio óptico, y los ojos se colocaron en un único tubo Eppendorf de 1,5 mL. Los tubos Eppendorf se congelaron de forma instantánea antes de
- 25 transferirlos a -80 °C. Cerebro: se recolectó y se pesó el hemisferio derecho sin bulbo olfatorio ni cerebelo antes de colocarlo en tubos Eppendorf de 1,5 mL. Los tubos Eppendorf se congelaron de forma instantánea antes de transferirlos a -80 °C.
- [0578]** Tal como se muestra en las FIGS. 14-20, se halló que la administración de las proteínas de fusión de dímero de Fc:PGRN Fusión 11 y Fusión 12 aumenta los niveles de
- 30 BMP en el hígado, plasma, orina, LCR y cerebro.

Ejemplo 17. Proteínas de fusión que cruzan la BBB.

[0579] Fusión 11 y Fusión 12 de la Tabla 1 se inyectaron a través de la vena de la cola en ratones con *GRN* KO (Jackson Laboratory, n.º 013175) cruzados con ratones con hTfR

KI (ratones *GRN* KO/hTfR.KI) para evaluar su capacidad de atravesar la BBB. Puede hallarse una descripción de los ratones con hTfR KI en la publicación de patente internacional n.º WO2018152285. Para generar los ratones con *GRN* KO/hTfR.KI, en la primera ronda de cruce, los ratones heterocigotos *GRN* (*GRN* HET) se cruzaron con los ratones homocigotos TfR^{ms/hu} KI (TfR^{ms/hu}.KI HOM) para generar una progenie de *GRN* HET x TfR^{ms/hu}.KI HET. Los ratones con *GRN* HET x TfR^{ms/hu}.KI HET se cruzaron luego con TfR^{ms/hu}.KI HOM para obtener la progenie *GRN* HET x TfR^{ms/hu}.KI HOM en esta segunda ronda. En la tercera y final ronda de cruce, los ratones con *GRN* HET x TfR^{ms/hu}.KI HOM se cruzaron con ratones *GRN* HET x TfR^{ms/hu}.KI HOM para generar finalmente los ratones con *GRN* KO x TfR^{ms/hu}.KI HOM que se usaron en este estudio.

[0580] Los ratones con *GRN* KO/hTfR.KI de 2-3 meses se dosificaron con 50 mg/kg por vía intravenosa a través de la vena de la cola ya sea con solución salina (vehículo), Fusión 7, Fusión 11 o Fusión 12 (Tabla 8). Los ratones se sedaron con avertina 24 horas después del tratamiento y se llevó a cabo una punción cardíaca para recolectar sangre completa para el aislamiento del plasma. Los animales se sometieron a perfusión transcárdica con 1X PBS enfriado a una velocidad de 5 mL/minuto durante 5-8 minutos, o hasta que no quedara más sangre en los hígados. Se recolectó una parte de 100 mg del hígado y el hemisferio izquierdo del cerebro, y se congelaron inmediatamente en hielo seco.

Tabla 8. Diseño del estudio/grupos experimentales

Molécula	Línea celular	Genotipo	Dosis (mg/kg)	Punto temporal	N/grupo	Material (mg)
Solución salina	N/C	TfR.KI	N/C	-3d, 1d*	6	N/C
Solución salina	N/C	<i>GRN</i> KO/TfR.KI	N/C	-3d, 1d*	5	N/C
Fusión 11	HEK	<i>GRN</i> KO/TfR.KI	50	-3d, 1d*	5	18
Fusión 12	HEK	<i>GRN</i> KO/TfR.KI	50	-3d, 1d*	5	18
Fusión 7	HEK	<i>GRN</i> KO/TfR.KI	50	-3d, 1d*	4	18

[0581] Las muestras de tejido se pesaron y se homogeneizaron en un volumen 10X por

peso de amortiguador de lisis celular (Cell Signaling Technologies; Tris-HCl 20 mM, pH 7,5, NaCl 150 mM, Na₂EDTA 1 mM, EGTA 1 mM, Triton al 1 %, pirofosfato de sodio 2,5 mM, beta-glicerofosfato 1 mM, Na₃VO₄ 1 mM y 1 µg/mL de leupeptina) complementado con 1X inhibidor de proteasa (Roche) y 1X inhibidor de fosfatasa (Roche). Las muestras se

5 homogeneizaron mediante el uso de TissueLyzer con perlas metálicas de 3 mm 2x 3 minutos a 29 Hz. Después de la homogeneización, las muestras se hicieron girar a velocidad máxima en la centrífuga de mesa durante 20 minutos a 4 °C. El sobrenadante se transfirió a tubos nuevo y se llevó a cabo el ensayo ELISA de Fc-PGRN (ELISA de captura de Fc y detección de PGRN) y ensayo ELISA de Fc-Fc (ELISA de captura de Fc y detección

10 de Fc) con esas muestras.

[0582] Los datos de las FIGS. 21A-21C muestran que Fusión 11 y Fusión 12 pudieron cruzar la BBB en el cerebro de los ratones *GRN KO/hTfR.KI*.

Tabla 6. Modificaciones del dominio CH3

Nombre del clon	Grupo	384	385	386	387	388	389	390	391	...	413	414	415	416	417	418	419	420	421
Tipo salvaje	n/c	N	G	Q	P	E	N	N	Y	...	D	K	S	R	W	Q	Q	G	N
1		L	G	L	V	W	V	G	Y	...	A	K	S	T	W	Q	Q	G	W
2		Y	G	T	V	W	S	H	Y	...	S	K	S	E	W	Q	Q	G	Y
3		Y	G	T	E	W	S	Q	Y	...	E	K	S	D	W	Q	Q	G	H
4		V	G	T	P	W	A	L	Y	...	L	K	S	E	W	Q	Q	G	W
17	2	Y	G	T	V	W	S	K	Y	...	S	K	S	E	W	Q	Q	G	F
18	1	L	G	H	V	W	A	V	Y	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
21	1	L	G	L	V	W	V	G	Y	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
25	1	M	G	H	V	W	V	G	Y	...	D	K	S	T	W	Q	Q	G	W
34	1	L	G	L	V	W	V	F	S	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
35	2	Y	G	T	E	W	S	S	Y	...	T	K	S	E	W	Q	Q	G	F
44	2	Y	G	T	E	W	S	N	Y	...	S	K	S	E	W	Q	Q	G	F
51	1/2	L	G	H	V	W	V	G	Y	...	S	K	S	E	W	Q	Q	G	W
3-3	1	L	G	H	V	W	V	A	T	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3.1-9	1	L	G	P	V	W	V	H	T	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3.2-5	1	L	G	H	V	W	V	D	Q	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3.2-19	1	L	G	H	V	W	V	N	Q	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3.2-1	1	L	G	H	V	W	V	N	F	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W

Tabla 7. Modificaciones adicionales del dominio CH3

Nombre del clon	378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390	391	392	411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421	422	423
Tipo salvaje	A	V	E	W	E	S	N	G	Q	P	E	N	N	Y	K	T	V	D	K	S	R	W	Q	Q	G	N	V	F
35.20.1	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20.2	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20.3	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20.4	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	S	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20.5	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20.6	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.1	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.2	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.3	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.4	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	S	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.5	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.6	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.1	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.2	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.3	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.4	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	S	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.5	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	A	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.6	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	V	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24.1	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24.2	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24.3	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24.4	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	S	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24.5	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	A	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24.6	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	V	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.17.1	.	.	L	.	.	.	F	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.17.2	.	.	L	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.17.3	.	.	L	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.17.4	.	.	L	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	S	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.17.5	.	.	L	.	.	.	F	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.17.6	.	.	L	.	.	.	F	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.22	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	.	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.17	.	.	L	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.N390	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	.	E	.	.	.	.	F	.	.

[0583] Se entiende que los ejemplos y las modalidades descritos en la presente se proporcionan con fines meramente ilustrativos y que se sugerirán a los expertos en la

5 técnica diversas modificaciones o cambios, en vista de estos, que deben incluirse conforme

al espíritu y ámbito de la presente solicitud y el alcance de las reivindicaciones adjuntas. Las secuencias de los números de acceso de secuencia citados en la presente se incorporan a la presente mediante referencia.

5 LISTADO INFORMAL DE SECUENCIAS

SEQ ID NO:	Secuencia	Descripción
1	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Secuencia de Fc humana de tipo salvaje Numeración según índice EU de las posiciones 231-447
2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAK	Secuencia de dominio CH2 Numeración según índice EU de las posiciones 231-340
3	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	Secuencia de dominio CH3 Numeración según índice EU de las posiciones 341-447
4	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESLGLVWVGKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVAKSTWQQGWVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.1
5	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESYGTWWSHYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVSKSEWQQGYVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.2
6	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESYGTWWSQYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVESDWQQGHVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.3

7	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESVGTWPWALYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVLKSEWQQGWVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.4
8	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESYGTWWSKYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.17
9	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESLGHVWAVYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.18
10	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESLGLVWVGykTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.21
11	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESMGHVWVGykTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSTWQQGWVFSCSVMH HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.25
12	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESLGLVWVFSKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.34
13	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESYGTWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35
14	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESYGTWWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.44

15	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESLGHVWVGKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVSKSEWQQGWVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.51
16	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESLGHVWVATKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.3.1-3
17	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESLGPVWVHTKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.3.1-9
18	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESLGHVWVDQKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.3.2-5
19	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESLGHVWVNQKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.3.2-19
20	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESLGHVWVNFKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.3.2-1
21	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESLGHVWAVYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Variante del clon CH3C.18
22	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLW ESLGHWVAVYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Variante del clon CH3C.18

23	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVY WESLGHVWAVYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTPVKSTWQQGWVWFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Variante del clon CH3C.18
24	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESLGHVWAVYQTTTPVLDSDGSFFLYSKLTPVKSTWQQGWVWFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Variante del clon CH3C.18
25	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESLGHVWAVYFTTPVLDSDGSFFLYSKLTPVKSTWQQGWVWFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Variante del clon CH3C.18
26	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESLGHVWAVYHTTPVLDSDGSFFLYSKLTPVKSTWQQGWVWFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Variante del clon CH3C.18
27	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESLGHVWAVYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTPVKSTWQQGWVWFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.13
28	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESLGHVWAVYQTTTPVLDSDGSFFLYSKLTPVKSTWQQGWVWFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.14
29	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESLGHVWAVYQTTTPVLDSDGSFFLYSKLTPVKSTWQQGWVWFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.15
30	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESLGHVWVNQKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTPVKSTWQQGWVWFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.16

31	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESLGHVWVNQQTTPPVLDSDGSFFLYSKLTPVKSTWQQGWVWFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.17
32	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESLGHVWVNQQTTPPVLDSDGSFFLYSKLTPVKSTWQQGWVWFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.18
33	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESYGTEWSSYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.19
34	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSSYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKKEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20
35	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESYGTEWSSYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKKEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21
36	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESYGTEWSNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.22
37	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKKEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23
38	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESYGTEWSNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKKEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.24

39	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESYGTWEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.N163
40	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESYGTWEWSYQTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.K165Q
41	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESYGTWEWSNYQTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.N163. K165Q
42	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLW ESYGTWEWSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.1
43	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLW ESYGTWEWSYRTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.2
44	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLW ESYGTWEWSYRTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTREEWQQGFVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.3
45	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLW ESYGTWEWSYRTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTGEEWQQGFVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.4
46	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLW ESYGTWEWSYRTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTREEWQQGFVFSCWVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.5

47	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLW ESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCWVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.6
48	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLW ESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREEWQQGFVFTCWVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.7
49	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLW ESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREEWQQGFVFTCGVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.8
50	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLW ESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREEWQQGFVFECWVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.9
51	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLW ESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREEWQQGFVFKCWVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.10
52	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLW ESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTPEEWQQGFVFKCWVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.11
53	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.12
54	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTGEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.13

55	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESYGTWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREEWQQGFVFTCWVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.14
56	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESYGTWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTGEEWQQGFVFTCWVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.15
57	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESYGTWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREEWQQGFVFTCGVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.16
58	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLW ESYGTWSSYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.17
59	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLW ESYGTWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.18
60	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESFGTEWSSYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1
61	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESYGTWASYSKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.2
62	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESYGTWVSYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.3

63	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSSYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.4
64	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESFGTEWASYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.5
65	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESFGTEWVSYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.6
66	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.a.1
67	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESYGTEWASYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.a.2
68	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESYGTEWVSYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.a.3
69	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESYGTEWSSYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.a.4
70	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESFGTEWASYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.a.5

71	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESFGTEWWSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.a.6
72	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESFGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.1
73	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESYGTIEWANYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2
74	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESYGTIEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3
75	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESYGTIEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4
76	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESFGTEWANYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.5
77	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESFGTEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.6
78	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESFGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.24.1

79	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESYGTIEWANYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.24.2
80	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESYGTIEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.24.3
81	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESYGTIEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.24.4
82	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESFGTEWANYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.24.5
83	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVW WESFGTEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.24.6
84	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLW ESFGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.17.1
85	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLW ESYGTIEWASYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.17.2
86	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLW ESYGTIEWSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.17.3

87	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLW ESYGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.17.4
88	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLW ESFGTEWASYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKKEEWQQGFVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.17.5
89	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLW ESFGTEWWSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKKEEWQQGFVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.17.6
90	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.N390
91	EPKSCDKTHTCPPCP	Secuencia de aminoácidos bisagra de IgG1 humana
92	MMDQARSASFNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNShvemKLAVDEEENAD NNTKANVTKPKRCSGSICYGTIAIVVFFLIGFMIGYLG YCKGVEPKTECERL AGTESPVREEPGEDFPAARRLYWDDLKRKLSEKLDSTDFGTIKLLNENSY VPREAGSQKDENLALYVENQFREFKLSKVWRDQHFVKIQVKDSAQNSVIIV DKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGS IVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAHLGTG DPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGDCPSD WKTDSTCRMVTSSESKNVKLT VSNVLKEIKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQ RDAWGPGAAGSGVGTALLKLAQMFSDMVLKDGFPQRSRIIFASWSAGDF GSVGATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTM QNVKHPVTGQFLYQDSNWASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCED TDYPYLGTTMDTYKELIERIPELNKVARAAAEVAGQFVIKLT HDVELNLDYE RYNSQLLSFVRDLNQYRADIKEMGLSLQWLYSARGDFFRATSRLTTDFGN AEKTD RFVMKKLND RVMRVEYHFLSPYVSPKESPFRRHVFVWGSGSHTLPA LLENLKL RKQNNGAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF	Proteína del receptor de transferrina humana 1 (TFR1)

93	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVW WESYGTWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutación de botón
94	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVW WESYGTWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones de botón y LALA
95	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVWWE SYGTWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones de botón e YTE
96	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVW WESYGTWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones de botón, LALA e YTE
97	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Secuencia de Fc con mutaciones de ojal
98	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Secuencia de Fc con mutaciones de ojal y LALA
99	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK	Secuencia de Fc con mutaciones de ojal e YTE
100	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Secuencia de Fc con mutaciones de ojal, LALA e YTE

101	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVW WESYGTWSSYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones de ojal
102	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVW WESYGTWSSYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones de ojal y LALA
103	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVWWE SYGTWSSYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones de ojal e YTE
104	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVW WESYGTWSSYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones de ojal, LALA e YTE
105	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Secuencia de Fc con mutación de botón
106	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Secuencia de Fc con mutaciones de botón y LALA
107	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK	Secuencia de Fc con mutaciones de botón e YTE
108	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Secuencia de Fc con mutaciones de botón, LALA e YTE

109	DKTHTCPPCP	Parte de secuencia bisagra de IgG1 humana (bisagra parcial)
110	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVWWEESYGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21 con mutaciones de botón y LALA y parte de la secuencia de bisagra de IgG1 humana
111	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRFDYVTTLPSPRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFDLSLSPGK	Clon CH3B.1
112	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRFDMVTTLPSPRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFDLSLSPGK	Clon CH3B.2
113	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRFEYVTTLPSPRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFDLSLSPGK	Clon CH3B.3
114	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRFEMVTTLPSPRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFDLSLSPGK	Clon CH3B.4
115	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRFELVTTLPSPRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFDLSLSPGK	Clon CH3B.5
116	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVEFIWYVDGVDVRYEWQLPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH2A2.1

117	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVGFVWYVD GVPVSWEWYWPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH2A2.2
118	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFDWYVD GVMVRREWHRPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH2A2.3
119	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVSFEWYVD GVPVRWEWQWPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH2A2.4
120	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVAFTWYVD GVPVRWEWQNPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH2A2.5
121	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDPQTPPWEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEEYYTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH2C.1
122	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDPPSPPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEEYYSNYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH2C.2
123	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDPQTPPWEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEEYYSNYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH2C.3
124	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDFRGPPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEEYYHDYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH2C.4

125	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDPQTPWEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEEYYSNYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH2C.5
126	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSVPPRMVKFNWYVD GVEVHNAKTKSLTSQHNSTVRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH2D.1
127	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSVPPWMVKFNWYVD GVEVHNAKTKSLTSQHNSTVRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH2D.2
128	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDMWEYVKFNWYVD GVEVHNAKTKPWVKQLNSTWRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH2D.3
129	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDDWTVWVKFNWYVD GVEVHNAKTKPWIAQPNSTWRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH2D.4
130	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDDEWVKFNWYVD GVEVHNAKTKPWKLQLNSTWRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH2D.5
131	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPWVWFYWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCSVNIALW WSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH2E3.1
132	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPVVGFRWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCRVNSALT WKIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH2E3.2

133	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPVVGFRWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCRVNSALS WRIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH2E3.3
134	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPIVGFRWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCRVNSALRW RIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH2E3.4
135	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPAVGFEWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKQVFNWALD WVIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH2E3.5
136	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVL WESYGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.17 con mutaciones de botón y LALA
137	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESFGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutación de botón
138	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESFGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de botón y LALA
139	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESFGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de botón y LALAPG
140	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SFGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de botón e YTE

141	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de botón, LALA e YTE
142	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de botón, LALAPG y YTE
143	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de ojal
144	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de ojal y LALA
145	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de ojal y LALAPG
146	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SFGTEWSSYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de ojal e YTE
147	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de ojal, LALA e YTE
148	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.20.1 con mutaciones de ojal, LALAPG e YTE

149	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESYGTIEWANYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutación de botón
150	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESYGTIEWANYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de botón y LALA
151	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESYGTIEWANYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de botón y LALAPG
152	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SYGTIEWANYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de botón e YTE
153	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESYGTIEWANYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de botón, LALA e YTE
154	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESYGTIEWANYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de botón, LALAPG y YTE
155	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESYGTIEWANYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de ojal
156	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESYGTIEWANYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de ojal y LALA

157	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESYGTEWANYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de ojal y LALAPG
158	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWANYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de ojal e YTE
159	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESYGTEWANYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de ojal, LALA e YTE
160	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESYGTEWANYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de ojal, LALAPG e YTE
161	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESYGTEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutación de botón
162	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESYGTEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de botón y LALA
163	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESYGTEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de botón y LALAPG
164	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de botón e YTE

165	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESYGTIEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKKEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de botón, LALA e YTE
166	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESYGTIEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKKEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de botón, LALAPG y YTE
167	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESYGTIEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKKEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de ojal
168	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESYGTIEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKKEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de ojal y LALA
169	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESYGTIEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKKEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de ojal y LALAPG
170	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SYGTIEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKKEWQQGFVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de ojal e YTE
171	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESYGTIEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKKEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de ojal, LALA e YTE
172	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESYGTIEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKKEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.3 con mutaciones de ojal, LALAPG e YTE

173	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutación de botón
174	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de botón y LALA
175	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de botón y LALAPG
176	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de botón e YTE
177	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de botón, LALA e YTE
178	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de botón, LALAPG y YTE
179	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de ojal
180	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de ojal y LALA

181	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de ojal y LALAPG
182	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de ojal e YTE
183	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de ojal, LALA e YTE
184	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.4 con mutaciones de ojal, LALAPG e YTE
185	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVL WESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.17.2 con mutación de botón
186	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVL WESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.17.2 con mutaciones de botón y LALA
187	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVL WESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.17.2 con mutaciones de botón y LALAPG
188	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWE SYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.17.2 con mutaciones de botón e YTE

189	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVL WESYGTIEWASYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.17.2 con mutaciones de botón, LALA e YTE
190	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVL WESYGTIEWASYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.17.2 con mutaciones de botón, LALAPG y YTE
191	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVL WESYGTIEWASYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.17.2 con mutaciones de ojal
192	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVL WESYGTIEWASYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.17.2 con mutaciones de ojal y LALA
193	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVL WESYGTIEWASYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.17.2 con mutaciones de ojal y LALAPG
194	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVLWE SYGTIEWASYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.17.2 con mutaciones de ojal e YTE
195	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVL WESYGTIEWASYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.17.2 con mutaciones de ojal, LALA e YTE
196	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVL WESYGTIEWASYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.17.2 con mutaciones de ojal, LALAPG e YTE

197	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutación de botón
198	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de botón y LALA
199	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de botón y LALAPG
200	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de botón e YTE
201	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de botón, LALA e YTE
202	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de botón, LALAPG y YTE
203	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de ojal
204	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de ojal y LALA

205	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de ojal y LALAPG
206	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de ojal e YTE
207	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de ojal, LALA e YTE
208	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESYGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23 con mutaciones de ojal, LALAPG e YTE
209	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQG FVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.21.17.2 con mutaciones de botón y LALA y parte de la secuencia de bisagra de IgG1 humana
210	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQG FVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de botón y LALA y parte de la secuencia de bisagra de IgG1 humana

211	MWTLSVSWVALTAGLVAGTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDK WPTTLSRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHH CCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDG SWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPQA RTNRAVALSSSVMCPDARSRCPDGSTCCELP SGKYGCCPMPNATCCSD HLHCCPQDQTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPD GYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPH QVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGC CPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLS HPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAG YTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCC RDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWD APLRDPALRQLL	Polipéptido de progranulina (PGRN) premaduro
212	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPQRTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELP SGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDQTVCDLIQSKCLS KENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Polipéptido de PGRN maduro

213	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSTRCPDGQFCPV ACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTV SGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQ CPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDL VHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMPDARSRCPDGSTCCE LPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTK LPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCC PAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVS SCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQR GSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACC QLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVSAQPATFLARSPHVGV KDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGF RCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de ojal- (G ₄ S) ₂ -PGRN
214	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSTRCPDGQFCPVACCLDP GGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSC CPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQCPDSQF ECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCI TPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMPDARSRCPDGSTCCELP SGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTV GDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFT CDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSS DTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVA GLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAV CCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVSAQPATFLARSPHVGVKDVECG EGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARG TKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de ojal-G ₄ S- PGRN

215	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFLLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSTRCPDGQFCP VACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFT VSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAI QCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDL VHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTC CELPSTGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPDQTVCDLIQSKCLSKENATDILL TKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIH CCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDN VSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQC QRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWA CCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVSAQPATFLARSPHV GVKDVECGEGHFCHDNQTCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPA GFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LALA-(G ₄ S) ₂ -PGRN
216	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFLLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSTRCPDGQFCPVACCLD PGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSS CCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQCPDSQ FECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRC ITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGK YGCCPMPNATCCSDHLHCCPDQTVCDLIQSKCLSKENATDILLTKLPAHT VGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGF TCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPS SDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIV AGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCLPHA VCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVSAQPATFLARSPHVGVKDVEC GEGHFCHDNQTCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAAR GTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LALA-G ₄ S-PGRN

217	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFVLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSTRCPDGQFCP VACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFT VSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAI QCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDL VHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTC CELPSTGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPDQTVCDLIQSKCLSKENATTDLL TKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIH CCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDN VSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQC QRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWA CCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVSAQPATFLARSPHV GVKDVECGEGHFCHDNQTCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPA GFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LALAPG-(G ₄ S) ₂ -PGRN
218	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFVLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSTRCPDGQFCPVACCLD PGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSS CCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQCPDSQ FECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRC ITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGK YGCCPMPNATCCSDHLHCCPDQTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHT VGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGF TCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPS SDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIV AGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCLPHA VCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVSAQPATFLARSPHVGVKDVEC GEGHFCHDNQTCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAAR GTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LALAPG-G ₄ S-PGRN

219	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSTRCPDGQFCPVA CCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVS GTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQ PDSQFECPDFSTCCVMVDGSGGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLV HTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSV MCPDARSRC PDGSTCCEL PSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKL PAHTVGDKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCC PAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVS SCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQR GSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACC QLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEV VSAQPATFLARSPHVGV KDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGF RCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LS- (G ₄ S) ₂ -PGRN
220	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGGSTRCPDGQFCPVACCLDP GGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSC CPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQCPDSQF ECPDFSTCCVMVDGSGGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCI TPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSV MCPDARSRC PDGSTCCELPSGKY GCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTV GDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFT CDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSS DTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVA GLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAV CCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEV VSAQPATFLARSPHVGVKDVECG EGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARG TKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LS- G ₄ S-PGRN

221	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFLLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSTRCPDGQFCP VACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFT VSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAI QCPDSQFECPDFSTCCVMVDGWSGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDL VHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTC CELPSTGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPDQTVCDLIQSKCLSKENATTDLL TKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIH CCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDN VSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQC QRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWA CCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVSAQPATFLARSPHV GVKDVECGEGHFCHDNQTCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPA GFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de ojal, LALA y LS-(G ₄ S) ₂ -PGRN
222	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFLLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGGSTRCPDGQFCPVACCLD PGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSS CCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQCPDSQ FECPDFSTCCVMVDGWSGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRC ITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSTGK YGCCPMPNATCCSDHLHCCPDQTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHT VGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGF TCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPS SDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIV AGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCLPHA VCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVSAQPATFLARSPHVGVKDVEC GEGHFCHDNQTCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAAR GTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de ojal, LALA y LS-G ₄ S-PGRN

223	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSTRCPDGQFCP VACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFT VSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAI QCPDSQFECPDFSTCCVMVDGWSGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFC DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTC CELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLL TKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIH CCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDN VSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQC QRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWA CCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVSAQPATFLARSPHV GVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPA GFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de ojal, LALAPG y LS-(G ₄ S) ₂ - PGRN
224	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGGSTRCPDGQFCPVACCLD PGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSS CCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQCPDSQ FECPDFSTCCVMVDGWSGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRC ITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGK YGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHT VGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGF TCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPS SDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIV AGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHA VCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVSAQPATFLARSPHVGVKDVEC GEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAAR GTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de ojal, LALAPG y LS-G ₄ S- PGRN

225	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATDDLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSGGG GSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	PGRN-(G ₄ S) ₂ -bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal
226	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATDDLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	PGRN-G ₄ S-bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal

227	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSGGG GSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCA VKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	PGRN-(G₄S)₂-bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LALA
228	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	PGRN-G₄S-bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LALA

229	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSGGG GSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCA VKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	PGRN-(G₄S)₂-bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LALAPG
230	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	PGRN-G₄S-bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LALAPG

231	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSGGG GSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	PGRN-(G ₄ S) ₂ -bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LS
232	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	PGRN-G ₄ S-bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal y LS

233	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATDDLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSGGG GSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCA VKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	PGRN-(G₄S)₂-bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal, LALA y LS
234	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATDDLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	PGRN-G₄S-bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal, LALA y LS

235	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSGGG GSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCA VKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	PGRN-(G₄S)₂-bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal, LALAPG y LS
236	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	PGRN-G₄S-bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de ojal, LALAPG y LS

237	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKG FYPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSTRCPDGGQFCPV ACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTV SGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQ CPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDL VHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMPDARSRCPDGSTCCE LPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTK LPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCC PAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVS SCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQR GSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACC QLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVSAQPATFLARSPHVG KDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGF RCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de botón- (G4S) ₂ -PGRN
238	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKG FYPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSTRCPDGGQFCPVACCLDP GGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSC CPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQCPDSQF ECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCI TPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMPDARSRCPDGSTCCELPSGKY GCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTV GDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFT CDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSS DTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVA GLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAV CCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVSAQPATFLARSPHVGKDVECG EGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARG TKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de botón- G4S-PGRN

239	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSTRCPDGQFCP VACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFT VSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAI QCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDL VHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTC CELPSTGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPDQTVCDLIQSKCLSKENATTDLL TKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIH CCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDN VSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQC QRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWA CCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVSAQPATFLARSPHV GVKDVECGEGHFCHDNQTCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPA GFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de botón y LALA-(G4S) ₂ -PGRN
240	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSTRCPDGQFCPVACCLD PGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSS CCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQCPDSQ FECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRC ITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGK YGCCPMPNATCCSDHLHCCPDQTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHT VGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGF TCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPS SDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIV AGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCLPHA VCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVSAQPATFLARSPHVGVKDVEC GEGHFCHDNQTCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAAR GTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de botón y LALA-G4S-PGRN

241	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSTRCPDGQFCP VACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFT VSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAI QCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDL VHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTC CELPSTGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPDQTVCDLIQSKCLSKENATTDLL TKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIH CCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDN VSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQC QRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWA CCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVSAQPATFLARSPHV GVKDVECGEGHFCHDNQTCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPA GFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de botón y LALAPG-(G ₄ S) ₂ -PGRN
242	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSTRCPDGQFCPVACCLD PGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSS CCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQCPDSQ FECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRC ITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGK YGCCPMPNATCCSDHLHCCPDQTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHT VGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGF TCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPS SDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIV AGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCLPHA VCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVSAQPATFLARSPHVGVKDVEC GEGHFCHDNQTCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAAR GTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de botón y LALAPG-G ₄ S-PGRN

243	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSTRCPDGQFCPVA CCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVS GTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQ PDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLV HTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARSRCPDGSTCCEL PSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKL PAHTVGDKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCC PAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVS SCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQR GSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACC QLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVSAQPATFLARSPHVG KDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGF RCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de botón y LS-(G ₄ S) ₂ -PGRN
244	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGGSTRCPDGQFCPVACCLDP GGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSC CPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQCPDSQF ECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCI TPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKY GCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTV GDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFT CDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSS DTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVA GLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAV CCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVSAQPATFLARSPHVGKDVECG EGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARG TKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de botón y LS-G ₄ S-PGRN

245	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSTRCPDGQFCP VACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFT VSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAI QCPDSQFECPDFSTCCVMVDGWSGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDL VHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTC CELPSTGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPDQTVCDLIQSKCLSKENATTDLL TKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIH CCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDN VSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQC QRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWA CCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVSAQPATFLARSPHV GVKDVECGEGHFCHDNQTCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPA GFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de botón, LALA y LS-(G ₄ S) ₂ -PGRN
246	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGGSTRCPDGQFCPVACCLD PGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSS CCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQCPDSQ FECPDFSTCCVMVDGWSGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRC ITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSTGK YGCCPMPNATCCSDHLHCCPDQTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHT VGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGF TCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPS SDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIV AGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHA VCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVSAQPATFLARSPHVGVKDVEC GEGHFCHDNQTCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAAR GTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de botón, LALA y LS-G ₄ S-PGRN

247	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSTRCPDGQFCP VACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFT VSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAI QCPDSQFECPDFSTCCVMVDGWSGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDL VHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTC CELPSTGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTCVCDLIQSKCLSKENATTDLL TKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIH CCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDN VSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQC QRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWA CCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVSAQPATFLARSPHV GVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPA GFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de botón, LALAPG y LS-(G ₄ S) ₂ - PGRN
248	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGGSTRCPDGQFCPVACCLD PGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSS CCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQCPDSQ FECPDFSTCCVMVDGWSGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRC ITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGK YGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTCVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHT VGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGF TCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPS SDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIV AGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHA VCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVSAQPATFLARSPHVGVKDVEC GEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAAR GTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de botón, LALAPG y LS-G ₄ S- PGRN

249	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATDDLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSGGG GSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	PGRN-(G₄S)₂-bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de botón
250	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATDDLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	PGRN-G₄S-bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de botón

251	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATDDLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSGGG GSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	PGRN-(G ₄ S) ₂ -bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de botón y LALA
252	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATDDLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	PGRN-G ₄ S-bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de botón y LALA

253	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVCEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSGGG GSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	PGRN-(G ₄ S) ₂ -bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de botón y LALAPG
254	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVCEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	PGRN-G ₄ S-bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de botón y LALAPG

255	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATDDLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSGGG GSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	PGRN-(G ₄ S) ₂ -bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de botón y LS
256	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATDDLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	PGRN-G ₄ S-bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de botón y LS

257	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSGGG GSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	PGRN-(G₄S)₂-bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de botón, LALA y LS
258	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	PGRN-G₄S-bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de botón, LALA y LS

259	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATDDLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSGGG GSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	PGRN-(G ₄ S) ₂ -bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de botón, LALAPG y LS
260	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLS KENATDDLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPAT FLARSPHVGVKDVECEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	PGRN-G ₄ S-bisagra parcial-polipéptido Fc con mutaciones de botón, LALAPG y LS
261	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVLMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial- secuencia de Fc con mutación de botón

262	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial- secuencia de Fc con mutaciones de botón y LALA
263	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial- secuencia de Fc con mutaciones de botón y LALAPG
264	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial- secuencia de Fc con mutaciones de botón y LS
265	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial- secuencia de Fc con mutaciones de botón, LALA y LS
266	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial- secuencia de Fc con mutaciones de botón, LALAPG y LS
267	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial- secuencia de Fc con mutaciones de ojal
268	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial- secuencia de Fc con mutaciones de ojal y LALA
269	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial- secuencia de Fc con mutaciones de ojal y LALAPG

270	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial- secuencia de Fc con mutaciones de ojal y LS
271	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial- secuencia de Fc con mutaciones de ojal, LALA y LS
272	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial- secuencia de Fc con mutaciones de ojal, LALAPG y LS
273	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial- CH3C.35.21.17 Fc botón
274	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSTRCPDGQFCPVA CCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVS GTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQ PDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLV HTRCITPTGTHPLAKKLPAQRNTNAVALSSSVMCPDARSRCPDGSTCCEL PSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATDLLTKL PAHTVGDKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCC PAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVS SCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQR GSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACC QLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAPATFLARSPHVGV KDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGF RCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- CH3C.35.21.17 Fc botón- (G ₄ S) ₂ -PGRN

275	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAH CSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGGCCPMPQASCCEDRVH CCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARS RCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDQTVCDLIQSKCLS KENATDILLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQ AVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQAL KRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYT CVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCP SLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAPAT FLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSGGG GSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLV KGFYPDSIAVLWESYGTEWSSYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQ GFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	PGRN-(G ₄ S) ₂ -bisagra parcial-CH3C.35.21.17 Fc botón
276	GGGGSGGGGS	Enlazador polipeptídico
277	GGGS	Enlazador polipeptídico
278	MWTLVSWVALTAGLVAG	Secuencia señal de progranulina
279	DVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFR CAARGTKCL	Granulina E (aminoácidos 518-573 de la SEQ ID NO:211)
280	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSKEVVSAPATFL ARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADR RHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Bisagra parcial- polipéptido Fc con mutaciones de ojal- (G ₄ S) ₂ -fusión de granulina E (aminoácidos 497-593 de la SEQ ID NO:211)
281	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVK FYPSDIAVEWESYGTEWANYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial-clon CH3C.35.23.2 con mutación de botón
282	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQG FVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial-clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de botón y LALAPG

283	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial-clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de botón y LS
284	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQG FVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial-clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de botón, LALA y LS
285	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQG FVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial-clon CH3C.35.23.2 con mutaciones de botón, LALAPG y LS
286	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial-clon CH3C.35.21.17.2 con mutación de botón
287	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQG FVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial-clon CH3C.35.21.17.2 con mutaciones de botón y LALAPG
288	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial-clon CH3C.35.21.17.2 con mutaciones de botón y LS
289	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQG FVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial-clon CH3C.35.21.17.2 con mutaciones de botón, LALA y LS
290	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQG FVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial-clon CH3C.35.21.17.2 con mutaciones de botón, LALAPG y LS

291	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial-clon CH3C.35.21.17 con mutaciones de botón y LALA
292	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial-clon CH3C.35.21.17 con mutaciones de botón y LALAPG
293	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial-clon CH3C.35.21.17 con mutaciones de botón y LS
294	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial-clon CH3C.35.21.17 con mutaciones de botón, LALA y LS
295	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Bisagra parcial-clon CH3C.35.21.17 con mutaciones de botón, LALAPG y LS
296	AQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSSEKNVKLTVSN	Inserción de dominio apical de la proteína del receptor de transferrina humana 1 (TFR1)
297	AQNSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVKADLSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGDCPSDWKTDSTCKMVTSENKSVKLTVS	Dominio apical de TfR de <i>Macaca mulatta</i> (mono rhesus) (secuencia de referencia de NCBI NP_001244232.1); tiene una identidad de 95 % con respecto al dominio apical de TfR humano natural

298	AQNSVIIVDKNGSLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKKDFEDL HTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFG HAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTVSRAAAEKLFGNM EGDCPSDWKTDSTCRMVTSESKNVKLTVSN	Dominio apical de TfR de chimpancé (secuencia de referencia de NCBI XP_003310238.1); tiene una identidad de 98 % con respecto al dominio apical de TfR humano natural
299	AQNSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKKDFEDL DSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVKADLSFFG HAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNM EGDCPSDWKTDSTCKMVTSENKSVKLTVSN	Dominio apical de TfR de <i>Macaca fascicularis</i> (mono cynomolgus) (secuencia de referencia de NCBI XP_005545315); tiene una identidad de 96 % con respecto al dominio apical de TfR humano natural
300	<i>MMDQARS</i> AFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDN SHVEMKLA ADEEENAD NNMKASVRKPKRFNGRLCFAAIALVIFFLIGFMSGYLG YCKRVEQKEECVK LAETEETDKSETMETEDVPTSSRLYWADLKTLSEKLN SIEFADTIKQLSQN TYTPREAGSQKDESLAYYIENQFHEFKFSKVWRDEHYVKIQVKSS AQNSVI IVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKKDFEDLYTPVN GSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAHL GTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGDC PSDWKTDSTCRMVTSESKNVKLTVSN VLKERRILNIFGVIKGYEEPDRYV VGAQRDALGAGVAAKSSVGTGLLLKLAQVFS DMISKDGFRPSRSIIFASWT AGDFGAVGATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKVVLTGTSNFKVSASPLLYTL MGKIMQDVKHPVDGKSLYRDSNWISKVEKLSFDNAAYPFLAYSGIPAVSFC FCEDADYPYLGTRLDTYEALTQKVPQLNQMVRTAAEVAGQLIKLTHDVEL NLDYEMYN SKLLSFMKDLNQFKTDIRD MGLSLQWLYSARGDYFRATSRLT TDFHNAEKTNR FVMREINDRIMKVEYHFLSPYVSPRES PFRHIFWGS GSHT LSALVENLKL RQKNITAFNETLFRNQLALATWTIQGVANALSGDIWNIDNEF	Secuencia de polipéptido de TfR quimérico expresado en ratones transgénicos (La parte en cursiva representa el dominio citoplasmático, la parte en negrita representa el dominio transmembrana, la parte en gris representa el dominio extracelular y la parte en negrita y subrayada representa el dominio apical)

301	GCTCAGAACTCCGTGATCATCGTGGATAAGAACGGCCGGCTGGTGTAC CTGGTGGAGAACCCTGGCGGATACGTGGCTTACTCTAAGGCCGCTACC GTGACAGGCAAGCTGGTGCACGCCAACTTCGGAACCAAGAAGGACTTT GAGGATCTGTACACACCAAGTGAACGGCTCTATCGTGATCGTGCGCGCT GGAAAGATCACCTTCGCCGAGAAGGTGGCTAACGCCGAGAGCCTGAA CGCCATCGGCGTGCTGATCTACATGGATCAGACAAAGTTTCCCATCGT GAACGCTGAGCTGTCTTTCTTTGGACACGCTCACCTGGGCACCGGAGA CCCATACACACCCGGATTCCCTAGCTTTAACCACACCCAGTTCCCCCCT TCCAGGTCTAGCGGACTGCCAAACATCCCCGTGCAGACAATCAGCAGA GCCGCTGCCGAGAAGCTGTTTGGCAACATGGAGGGAGACTGCCCCCTC CGATTGGAAGACCGACTCTACATGTAGGATGGTGACCTCCGAGTCAAA AAATGTCAAACCTACCGTGTCCAAT	Secuencia de ADN de inserción de dominio apical humano
302	YxTEWSS	Motivo de biblioteca
303	6xHis	Etiqueta his
304	GGSG	Enlazador polipeptídico
305	SGGG	Enlazador polipeptídico
306	KESGSVSSEQLAQFRSLD	Enlazador polipeptídico
307	EGKSSSGSGSESKST	Enlazador polipeptídico
308	GSAGSAAGSGEF	Enlazador polipeptídico
309	AEEAAKA	Enlazador polipeptídico