

Información Sobre el Listado de Secuencias

La presente solicitud contiene un Listado de Secuencias que se ha enviado electrónicamente en formato ASCII y se incorpora en el presente documento como
10 referencia en su totalidad. Dicha copia ASCII, creada el 31 de agosto de 2020, se denomina PAT058332_SL.txt y tiene un tamaño de 653.193 bytes.

Campo de la Invención

La presente invención se refiere a proteínas de fusión que comprenden
15 capacidades tanto de unión a integrinas como de unión a fosfatidilserina. Las proteínas de fusión se pueden utilizar como agentes terapéuticos, en particular para la prevención o el tratamiento de trastornos inflamatorios agudos o crónicos y trastornos microvasculares y de órganos impulsados por el sistema inmunitario o la coagulación.

20 Discusión de Antecedentes

Las lesiones orgánicas inflamatorias agudas (AOI) son enfermedades históricamente desafiantes con una alta morbilidad, mortalidad y una importante necesidad médica insatisfecha. Las AOI típicas incluyen infarto de miocardio (MI) y accidente cerebrovascular que ocurren en 32,4 millones de pacientes en todo el mundo
25 cada año. La Organización Mundial de la Salud considera a los pacientes con infarto de miocardio y accidente cerebrovascular previos como el grupo de mayor riesgo de sufrir más eventos coronarios y cerebrales, que se encuentran entre las principales causas de morbilidad en el mundo desarrollado. Otra AOI es la lesión renal aguda (AKI), que ocurre en aproximadamente 13,3 millones de personas por año. En los países de ingresos altos,
30 la incidencia de AKI es de 3–5/1000 y se asocia con una alta mortalidad (14–46%) (Metha *et al.*, (2015) Lancet, 385(9987): 2616–43). Al igual que ocurre con el infarto de miocardio y el accidente cerebrovascular, los supervivientes de AKI a menudo no se recuperan por completo y tienen un mayor riesgo de desarrollar enfermedad renal crónica o enfermedad renal en etapa terminal. Hasta la fecha, no existe ningún fármaco aprobado por la FDA
35 para prevenir o tratar la AKI. El desarrollo de nuevos tratamientos para la AKI ha demostrado ser un desafío, sin resultados exitosos de ensayos clínicos hasta ahora. Es probable que esto se deba a la fisiopatología multifactorial y multifacética de la AKI que

5 incluye disfunción microvascular inflamatoria y patomecanismos nefrotóxicos provocados por agresiones sépticas, isquémicas/de reperfusión y/o nefrotóxicas. Estos impulsores pueden actuar de manera simultánea o consecutiva para causar principalmente daño celular tubular pero también glomerular, pérdida de la reserva funcional renal y eventualmente insuficiencia renal.

10 Un denominador común de las AOI es el aumento de la muerte celular debido a la lesión tisular, el aumento de la generación de fragmentos celulares y micropartículas protrombóticas/proinflamatorias que pueden ingresar a la circulación y al tejido lesionado. Después de la infiltración tisular de neutrófilos para defenderse de la infección, los neutrófilos sufren apoptosis u otras formas de muerte celular en el tejido afectado. Los
15 neutrófilos contienen sustancias nocivas, incluidas las enzimas proteolíticas y los patrones moleculares asociados al peligro (DAMP) que pueden promover el daño del tejido del huésped y propagar la inflamación. La captación eficiente de células moribundas desencadena eventos de señalización que conducen a la reprogramación de los macrófagos (MΦ) hacia un fenotipo no inflamatorio, pro-resolutivo y la liberación de
20 mediadores clave para la resolución y reparación exitosas del tejido afectado. Esta reprogramación se ha atribuido recientemente a una señalización metabólica que activa respuestas antiinflamatorias fagocíticas en macrófagos (Zhang *et al.*, (2019) Cell Metabolism, 29(2): 443–56). Esta eliminación de desechos o células envejecidas o moribundas de manera no inflamatoria se denomina "eferocitosis".

25 Sin embargo, en el caso de que la eferocitosis se retrase, las células necróticas pueden acumularse y causar, por ejemplo, respuestas inflamatorias que desencadenan citocinas proinflamatorias (TNF- α) o IL-10 inmunosupresora por parte de macrófagos (Greenlee-Wacker (2016) Immunol. Reviews, 273: 357–370). Además, si los restos celulares y las partículas no se eliminan de manera eficiente, pueden causar
30 aglomeraciones y agregados celulares, como grupos de fragmentos de plaquetas y neutrófilos, microtrombos y/o liberación de patrones moleculares asociados al peligro (DAMPS) tales como ATP, ADN, histonas o HMGB1. Las consecuencias pueden incluir oclusión de la microvasculatura, disfunción e inflamación estéril pronunciada que da como resultado la progresión de la lesión tisular, insuficiencia orgánica primaria y secundaria o
35 reparación inadecuada.

En la fase aguda de las AOI, las vías eferocitóticas parecen estar significativamente reguladas por disminución. La inflamación o la respuesta aguda a una

5 lesión (señales mecánicas, hipoxia, estrés oxidativo, radiación, inflamación e infección)
suprimen la eferocitosis o fagocitosis eficaz mediante la regulación por disminución de las
proteínas de unión a fosfatidilserina (PS) dedicadas que incluyen proteínas puente y
receptores de eferocitosis/depuración de la superficie celular. Un ejemplo de
desfuncionalización de un receptor de eferocitosis es el desprendimiento proteolítico de
10 receptores de la familia TAM como Mer tirosina quinasa (MerTK). MerTK es una proteína
de membrana integral expresada preferentemente en células fagocíticas, donde actúa
como proteína de señalización pero también promueve la eferocitosis (a través de
proteínas como Gas6 o Proteína S) e inhibe la señalización inflamatoria. La escisión
proteolítica y la liberación del ectodominio soluble de MerTK se induce por la
15 metaloproteínasa ADAM17. El proceso de desprendimiento puede reducir la eferocitosis
de las células fagocíticas mediante la privación de MerTK de superficie. Además, el
ectodominio liberado también puede inhibir la eferocitosis *in vitro* (Zhang *et al.*, (2015) J
Mol Cell Cardiol., 87:171–9; Miller *et al.*, (2017) Clin Cancer Res., 23(3):623–629). Las
cantidades elevadas de Mer soluble en suero/plasma se observan típicamente en
20 enfermedades inflamatorias, malignas o autoinmunes como la nefropatía diabética o el
lupus eritematoso sistémico (SLE) y pueden marcar la gravedad de la enfermedad
(Ochodnický P (2017) Am J Pathol., 187(9):1971–1983; Wu *et al.*, (2011) Arthritis Res
Ther. 13:R88). Además, las proteínas puente, como el glóbulo de grasa de la leche y la
proteína factor 8 EGF (MFG–E8), también se regulan por disminución durante las
25 enfermedades inflamatorias más agudas y crónicas. De manera similar al Mer soluble, se
puede encontrar una concentración sérica/plasmática reducida de MFG–E8 en pacientes
con infarto de miocardio o pacientes con angina estable (Dai *et al.*, (2016) World J
Cardiol., 8(1): 1–23) y puede marcar la gravedad de la enfermedad como se describe para
la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD; Zhang *et al.*, (2015) *supra*).

30 La exposición a fosfatidilserina (PS) en células moribundas es una señal
antiinflamatoria e inmunosupresora conservada evolutivamente para las células inmunes.
Un gran número de los principales patógenos de mamíferos utilizan la captación mediada
por PS como parte de una infección celular virulenta (Birge *et al.*, (2016) Cell Death Diff.,
23(6): 962–78). Los virus, por ejemplo, pueden unirse a receptores de unión a PS
35 directamente o mediante proteínas como Gas6 (Morizono & Chen (2014) J Virol., 88 (8):
4275–90). Es posible que la inactivación de las vías de depuración endógenas en
respuesta a una lesión presente una respuesta desarrollada evolutivamente para reducir

5 la eficiencia de un agente infeccioso para entrar y secuestrar las células después de la
lesión y, por lo tanto, eludir la respuesta inmunitaria y la defensa del huésped. En
consecuencia, la modulación por disminución de las vías de depuración mejoraría la
eficacia de los efectores inmunitarios innatos y adaptativos para combatir las infecciones.
Como consecuencia de un "fuego amigo", la eferocitosis puede verse afectada
10 temporalmente durante una lesión orgánica aguda y pueden ocurrir las complicaciones
mencionadas anteriormente en las AOI. Una acumulación de células moribundas, restos y
MP proinflamatorias y protrombóticas son características de las AOI y representan los
principales desencadenantes de inflamación y daño microvascular. Es de destacar que
dicha acumulación de micropartículas proinflamatorias y protrombóticas es común en
15 enfermedades graves con alta necesidad médica y puede contribuir a su morbilidad.
Ejemplos de tales indicaciones son la sepsis y el cáncer (Yang *et al.*, (2016) *Tumour Biol.*,
37(6): 7881–91; Zhao *et al.*, (2016) *J Exp Clin Cancer Res.*, 35: 54; Muhsin–Sharafaldine
et al., (2017) *Biochim Biophys Acta Gen Subj.*, 1861(2): 286–295; Ma *et al.*, (2017) *Sci*
Rep., 7(1): 4978; Souza *et al.*, (2015) *Kidney Int.* 87(6): 1100–8). Los esfuerzos previos de
20 descubrimiento de fármacos en esta área se han centrado en proteínas de unión a PS,
que pueden servir como base para un diseño de candidatos de fármacos según lo
revisado por (Li *et al.*, (2013) *Exp Opin Ther Targets*, 17(11): 1275–1285).

Un subconjunto de proteínas de unión a PS también reconoce y se une a
integrinas, como $\alpha\beta3$ y $\alpha\beta5$, que se expresan en muchos tipos de células, incluidos los
25 fagocitos. Estas proteínas actúan como puente entre PS y exponen las células
apoptóticas/moribundas a las integrinas, lo que da como resultado eferocitosis (también
denominada fagocitosis) por macrófagos y fagocitos no profesionales. Algunas proteínas
puente también se regulan por disminución durante las enfermedades inflamatorias más
agudas y crónicas. Se han sugerido previamente usos terapéuticos para tales proteínas
30 puente o versiones truncadas de las mismas (WO2006122327 (sepsis), WO2009064448
(lesión orgánica después de isquemia/reperfusión), WO2012149254 (isquemia cerebral)
The Feinstein Institute for Medical Research; WO2015025959 (infarto de miocardio)
Kyushu University & Universidad Médica de Tokio; WO20150175512 (resorción ósea)
Universidad de Pennsylvania; WO2017018698 (fibrosis tisular) Fundación de
35 Investigación y Negocios de la Universidad de Corea y US20180334486 (fibrosis tisular)
Nexel Co., Ltd.); sin embargo, el uso de proteínas naturales o de tipo salvaje está limitado
por una serie de problemas. Por ejemplo, se considera que MFG–E8 de tipo salvaje

5 (wtMFG–E8) tiene poca capacidad de desarrollo, baja solubilidad y se expresa con un
rendimiento muy bajo cuando se cultiva en sistemas de expresión celular. El trabajo de
Castellanos *et al.*, (2016) ha demostrado que MFG–E8 expresado en células de insectos
o CHO como fusión Fc–IgG está completamente agregado y solo podría purificarse
eficientemente mediante la adición de detergentes como Triton X–100 o CHAPS
10 (Castellanos *et al.*, (2016) Protein Exp. Pur., 124: 10–22).

La eliminación de células moribundas, desechos y micropartículas por las
proteínas puente, por ejemplo, MFG–E8, EDIL3, Gas6, podría eliminar las principales
causas de inflamación estéril y disfunción microvascular y así prevenir la progresión de la
lesión tisular y permitir la resolución de la inflamación. Por lo tanto, un enfoque terapéutico
15 para promover la eliminación de las células moribundas durante el curso de las AOI se
podría utilizar para reducir o al menos aliviar la patología de las AOI y podría ser
significativo en otros entornos de enfermedad donde las células moribundas o las
micropartículas que exponen a PS no se eliminan lo suficiente. Como tal, existe la
necesidad de un agente terapéutico que se pueda utilizar para reducir la lesión y la
20 inflamación del tejido y que tenga propiedades de fabricación deseables para abordar la
necesidad médica no satisfecha en las AOI.

Breve Descripción de la Invención

En la presente descripción, los solicitantes han generado proteínas de fusión
25 terapéuticas recombinantes basadas en la estructura de las proteínas puente de origen
natural (por ejemplo, MFG–E8) sin las propiedades indeseables mencionadas
anteriormente y los problemas de producción de la proteína de tipo salvaje. Las proteínas
de fusión de la presente divulgación comprenden un dominio de unión a integrina, un
dominio de unión a PS y un dominio de solubilización. Las proteínas de fusión mantienen
30 las principales funciones biológicas de la proteína MFG–E8 de tipo salvaje, por ejemplo,
actuando para puentear PS exponiendo células moribundas, desechos y micropartículas a
los fagocitos y, por lo tanto, desencadenando eferocitosis. Además, las proteínas de
fusión terapéuticas de la presente divulgación tienen capacidad de desarrollo mejorada,
en particular pegajosidad reducida y solubilidad mejorada en comparación con la proteína
35 MFG–E8 de tipo salvaje (SEQ ID NO: 1). Además, estas proteínas de fusión terapéuticas
tienen una exposición plasmática más prolongada y tienen un mayor rendimiento cuando

5 se expresan en sistemas de expresión celular en comparación con la proteína MFG-E8 de tipo salvaje.

En el presente documento se proporcionan proteínas de fusión terapéuticas para potenciar la eferocitosis que comprenden un dominio de unión a integrina, un dominio de unión a fosfatidilserina (PS) y un dominio de solubilización.

10 En algunas modalidades, el dominio de solubilización de la proteína de fusión está unido al dominio de unión a integrina. En algunas modalidades, el dominio de solubilización está unido al dominio de unión a PS. En algunas modalidades, el dominio de solubilización está unido tanto al dominio de unión a integrina como al dominio de unión a PS, es decir, está ubicado entre el dominio de unión a integrina y el dominio de
15 unión a PS. En algunas modalidades, el dominio solubilizante se inserta dentro del dominio de unión a integrina o se inserta dentro del dominio de unión a PS. En una modalidad, la proteína de fusión terapéutica tiene la estructura de N- a C-terminal: dominio de unión a integrina–dominio de solubilización–dominio de unión a PS.

En algunas modalidades, el dominio de unión a integrina de la proteína de fusión
20 terapéutica comprende un motivo de unión de arginina–glicina–ácido aspártico (RGD) y se une a la(s) integrina(s) $\alpha v \beta 3$ y/o $\alpha v \beta 5$ o $\alpha 8 \beta 1$.

En algunas modalidades, el dominio de solubilización de la proteína de fusión terapéutica se une directamente al dominio de unión a integrina y/o se une al dominio de unión a PS, es decir, se inserta entre dichos dominios. En una modalidad alternativa, el
25 dominio de solubilización se une indirectamente al dominio de unión a integrina y/o al dominio de unión a PS mediante un ligador, tal como un ligador externo. En algunas modalidades, el dominio de solubilización comprende albúmina de suero humano (HSA), el dominio 3 de HSA (HSA D3) o la región Fc de una IgG (Fc-IgG), o una variante funcional de la misma.

30 En algunas modalidades, la proteína de fusión terapéutica comprende el C-terminal de un dominio de unión a integrina unido al N-terminal de un dominio de solubilización, y el C-terminal del dominio de solubilización unido a un dominio de unión a PS. En algunas modalidades, la proteína de fusión terapéutica comprende la estructura general EGF–HSA–C1–C2 en donde EGF representa la unión a integrina, dominio similar
35 a EGF de MFG-E8, EDIL3 u otras proteínas que comprenden un dominio de unión a integrina como se enumera en la Tabla 1, y C1–C2 representa el dominio de unión a PS que se encuentra en MFG-E8, EDIL3 u otras proteínas que comprenden un dominio de

5 unión a PS como se enumera en la Tabla 2. Ejemplos de proteínas que comprenden tanto un dominio de unión a integrina como un dominio de unión a PS, por ejemplo, MFG–E8 (SEQ ID NO: 1) y EDIL3 (SEQ ID NO: 11), se enumeran en la Tabla 3.

En algunas modalidades, el dominio de unión a integrina es un dominio similar a EGF, por ejemplo, que tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ
10 ID NO: 2 o un aminoácido de al menos 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con el mismo, o variantes truncadas del mismo. En una modalidad, el dominio similar a EGF comprende el dominio similar a EGF de MFG–E8 humano o una variante funcional del mismo que comprende una, dos, tres, cuatro, cinco, hasta 10 modificaciones de aminoácidos. En una modalidad, el dominio similar a EGF comprende el dominio
15 similar a EGF de EDIL3 humana o una variante funcional del mismo que comprende una, dos, tres, cuatro, cinco, hasta 10 modificaciones de aminoácidos.

En algunas modalidades, el dominio de unión a PS comprende dos subdominios C1–C2 de discoidina, por ejemplo, el dominio de unión a PS de MFG–E8 humano tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 3 o un aminoácido
20 de al menos 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con los mismos, o variantes truncadas de los mismos. En una modalidad, el dominio de unión a PS comprende el dominio de unión a PS de MFG–E8 humano o una variante funcional del mismo que comprende una, dos, tres, cuatro, cinco, hasta 10 modificaciones de aminoácidos. En una modalidad, el dominio de unión a PS comprende el dominio de unión
25 a PS de EDIL3 humana o una variante funcional del mismo que comprende una, dos, tres, cuatro, cinco, hasta 10 modificaciones de aminoácidos.

En algunas modalidades, el dominio de solubilización es HSA o una variante funcional del mismo, por ejemplo, que tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 4 o un aminoácido de al menos 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o
30 99% de identidad de secuencia con el mismo, o variantes truncadas del mismo. En una modalidad, la HSA comprende la sustitución de aminoácidos C34S que funciona para reducir la propensión de la proteína a la agregación, y tiene la secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 5. En algunas modalidades, el dominio de solubilización comprende albúmina de suero humano. (HSA) o una variante funcional del
35 mismo que comprende una, dos, tres, cuatro, cinco, hasta 10 modificaciones de aminoácidos, por ejemplo, HSA C34S, o una variante truncada de HSA, por ejemplo,

5 dominio 3 de HSA (HSA D3) o una variante funcional del mismo. En una modalidad preferida, el dominio de solubilización es HSA C34S.

En una modalidad alternativa, el dominio de solubilización comprende la región Fc de una IgG (Fc-IgG), por ejemplo la región Fc de una IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 humana o una variante funcional de las mismas. En una modalidad, el dominio de solubilización
10 comprende la región Fc de una Fc-IgG1 humana que tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 7 o un aminoácido de al menos 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con el mismo, o variantes truncadas del mismo. En una modalidad, la Fc-IgG1 comprende las sustituciones de aminoácidos D265A y P329A para reducir la función efectora de Fc, y tiene la secuencia
15 de aminoácidos que se establece en la SEQ ID NO: 8. En otra modalidad, la Fc-IgG1 comprende la sustitución de aminoácido T366W para crear un "botón" o puede comprender las sustituciones de aminoácidos T366S, L368A, Y407V para crear un "ojal". Además, el botón Fc-IgG1 puede comprender la sustitución de aminoácidos S354C y el ojal Fc-IgG1 puede comprender la sustitución de aminoácidos Y349C de modo que al
20 emparejar se forma un puente de cisteína. Además de las modificaciones del botón en el ojal, Fc-IgG1 también puede comprender las sustituciones D265A y P329A para reducir la función efectora de Fc. En una modalidad, la Fc-IgG1 tiene la secuencia de aminoácidos que se expone en la SEQ ID NO: 9 o 10.

En una modalidad preferida, la proteína de fusión terapéutica comprende glóbulo
25 de grasa de la leche-proteína factor 8 EGF (MFG-E8) y un dominio de solubilización, en donde MFG-E8 comprende un dominio similar a EGF de unión a integrina (SEQ ID NO: 2) y dominios C1-C2 de unión a fosfatidilserina (SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 76). MFG-E8 puede comprender MFG-E8 humano natural o de tipo salvaje (SEQ ID NO: 1), o MFGE-8 con SEQ ID NO: 75, o una variante funcional del mismo. En una modalidad, el dominio de
30 solubilización está unido al N o C-terminal de MFG-E8. En una modalidad, el dominio de solubilización se inserta entre el dominio similar a EGF y el dominio C1 o entre los dominios C1 y C2. En una modalidad preferida, el dominio de solubilización se une al C-terminal del dominio similar a EGF y se une al N-terminal del dominio C1. El dominio de solubilización puede unirse directa o indirectamente al C-terminal del dominio similar a
35 EGF y unirse directa o indirectamente al N-terminal del dominio C1. En algunas modalidades, el enlace indirecto es por medio de un ligador externo, por ejemplo, un ligador basado en glicina-serina.

5 En una modalidad, la proteína de fusión terapéutica comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en SEQ ID NO: 42 (FP330). En una modalidad, la proteína de fusión terapéutica puede comprender una etiqueta de histidina (etiqueta His; SEQ ID NO: 67) para ayudar a la detección y/o purificación en ensayos de caracterización y expresión de proteínas. En una modalidad, la proteína de fusión terapéutica tiene una
10 etiqueta His C-terminal y comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 44 (FP278). Las proteínas de fusión terapéuticas FP278 y FP330 comparten la misma secuencia de aminoácidos excepto por la adición de una etiqueta His a FP278.

En algunas modalidades, la proteína de fusión terapéutica comprende una
15 secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 42 (FP330) o un aminoácido de al menos el 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad secuencia del mismo, o variantes truncadas del mismo. Por ejemplo, la proteína de fusión terapéutica FP776 comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 48 y tiene una identidad de secuencia del 97,7% con FP330 (SEQ ID NO: 42). Por
20 ejemplo, la proteína de fusión terapéutica FP068 comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 46 y tiene una identidad de secuencia del 98,3% con FP330 (SEQ ID NO: 42). Por ejemplo, la proteína de fusión terapéutica FP816 comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 58 y tiene una identidad de secuencia del 98,5% con FP330 (SEQ ID NO: 42). Por
25 ejemplo, la proteína de fusión terapéutica FP811 comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 54 y tiene una identidad de secuencia del 99,0% con FP330 (SEQ ID NO: 42). Por ejemplo, la proteína de fusión terapéutica FP010 comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en SEQ ID NO: 56 y tiene una identidad de secuencia del 99,5% con FP330 (SEQ ID NO: 42). Por ejemplo, la
30 proteína de fusión terapéutica FP138 comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en SEQ ID NO: 52 y tiene una identidad de secuencia del 99,8% con FP330 (SEQ ID NO: 42). Por ejemplo, la proteína de fusión terapéutica FP284 comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 50 y tiene una identidad de secuencia del 99,9% con FP330 (SEQ ID NO: 42).

35 En algunas modalidades, y como se describe en la sección de Ejemplos, las proteínas de fusión terapéuticas de la presente divulgación funcionan para promover la eferocitosis por las células endoteliales en un ensayo de eferocitosis célula endotelial

5 humana-célula Jurkat y restaurar la eferocitosis basal deteriorada y aumentada por
macrófagos en un ensayo de eferocitosis de macrófagos y neutrófilos humanos; las
proteínas de fusión funcionan para reducir el número de micropartículas plasmáticas
mediante la depuración en un ensayo de eferocitosis de micropartículas endoteliales
humanas; y/o las proteínas de fusión proporcionan protección contra la lesión de múltiples
10 órganos en un modelo de isquemia renal aguda.

También se describen en el presente documento métodos, usos, reactivos de
diagnóstico, composiciones farmacéuticas y kits que utilizan o comprenden estas
proteínas de fusión terapéuticas. También se proporcionan en el presente documento
ácidos nucleicos que codifican las proteínas de fusión descritas, vectores de clonación y
15 expresión que comprenden dichos ácidos nucleicos, células huésped que comprenden
dichos ácidos nucleicos y procesos para producir las proteínas de fusión descritas
cultivando dichas células huésped.

Breve Descripción de las Figuras

20 La **Figura 1** muestra una representación esquemática de ejemplos de proteínas de
fusión terapéuticas de la presente descripción. Se unió un dominio de solubilización
(etiquetado como "SD") en el extremo C-terminal, el N-terminal o entre los dominios EGF,
C1 o C2 de MFG-E8.

La **Figura 2** muestra varios geles de proteínas SDS-PAGE de las proteínas de
25 fusión expresadas en células HEK. La Fig. 2A: proteína EGF-HSA-C1-C2 (FP330; SEQ
ID NO: 42); Fig. 2B: EGF-HSA-C1-C2 de la proteína EDIL3 (FP050; SEQ ID NO: 12); Fig
2C: proteína EGF-Fc (KiH) C1-C2 no reducida y reducida (esta proteína es un
heterodímero de FP071 (EGF-Fc (botón)-C1-C2; SEQ ID NO: 18) con ojal Fc-IgG1
(SEQ ID NO: 10)); Fig. 2D: proteína EGF-HSA-C1 (FP260; SEQ ID NO: 34). Para cada
30 una de las Fig. 2A, 2C y 2D, la primera columna muestra un marcador de patrones sin
teñir de proteína Precision Plus y la segunda columna muestra la proteína de fusión
respectiva. Para la Fig 2B, la primera columna muestra la proteína de fusión y la segunda
columna muestra un marcador de estándares sin teñir de proteína Precision Plus. La
Figura 2E muestra proteínas recombinantes adicionales que se han producido y
35 purificado.

La **Figura 3** ejemplifica el efecto de la pérdida de MFG-E8 de tipo salvaje (wt)
frente a la proteína de fusión FP278 (etiqueta EGF-HSA-C1-C2-His; SEQ ID NO: 44)

5 durante la manipulación práctica. La figura 3A muestra una pérdida de eficacia para wtMFG-E8 en el ensayo de competición de L- α -fosfatidilserina cuando se hicieron diluciones de proteínas en placas de polipropileno (símbolo: $\square$) en comparación con diluciones hechas en placas sin unión (símbolo: $\bullet$). Por el contrario, la figura 3B prácticamente no muestra pérdida de eficacia para la proteína de fusión FP278 (etiqueta EGF-HSA-C1-C2-His; SEQ ID NO: 44) en el ensayo de competición de PS cuando se hicieron diluciones de proteínas en placas de polipropileno (símbolo: $\square$) versus placas no vinculantes (símbolo: $\bullet$).

La **Figura 4** muestra la unión de proteínas de fusión a L- α -fosfatidilserina. La figura 4A muestra la unión de FP278 (etiqueta EGF-HSA-C1-C2-His; SEQ ID NO: 44) a L- α -fosfatidilserina inmovilizada y en un grado más débil a la cardiolipina fosfolípida, de una manera dependiente de la concentración. La figura 4B muestra la unión de wtMFG-E8 humano y varias proteínas de fusión terapéuticas: FP278 (etiqueta EGF-HSA-C1-C2-His; SEQ ID NO: 44), FP250 (EGF-HSA; SEQ ID NO: 32), FP260 (EGF-HSA-C1; SEQ ID NO: 34) y FP270 (EGF-HSA-C2; SEQ ID NO: 36), a L- α -fosfatidilserina inmovilizada de una manera dependiente de la concentración en un formato de ensayo de competición (competición contra la unión de wtMFG-E8 de ratón biotinilado a L- α -fosfatidilserina).

La **Figura 5** muestra la adhesión celular dependiente de la integrina α_v a proteínas de fusión. La Fig. 5A muestra que la adhesión celular a FP330 (EGF-HSA-C1-C2; SEQ ID NO: 42) está completamente bloqueada por el inhibidor de la integrina α_v cilengitide o EDTA 10 mM. Una mutación de un solo punto en el motivo de unión a integrina RGD (RGD> RGE) del dominio similar a EGF (FP280; SEQ ID NO: 38) da como resultado la anulación completa de la adhesión celular como se muestra en la Fig. 5B. La Fig. 5C muestra que la proteína EGF-HSA inmovilizada (FP250; SEQ ID NO: 32) no apoya o sólo apoya moderadamente la adhesión de células BW5147.G.1.4 a pesar de un dominio similar a EGF. Como se muestra en la Fig. 5D, una proteína de fusión de esta descripción (FP330; SEQ ID NO: 42) promueve la adhesión celular dependiente de la integrina α_v similar a wtMFG-E8 cuando se expresa en células CHO o en células HEK.

La **Figura 6** muestra el efecto de la proteína de fusión terapéutica FP278 (etiqueta EGF-HSA-C1-C2-His; SEQ ID NO: 44) sobre la promoción de la eferocitosis de neutrófilos moribundos por macrófagos humanos. La concentración de la proteína de fusión se muestra en el eje x y la eferocitosis [%] se muestra en el eje y.

La **Figura 7** muestra que la proteína de fusión terapéutica FP278 (etiqueta EGF–HSA–C1–C2–His; SEQ ID NO: 44) puede rescatar la eferocitosis alterada por endotoxina (lipopolisacárido) de neutrófilos moribundos por macrófagos humanos. La figura 7A muestra el deterioro de la eferocitosis de macrófagos de neutrófilos humanos moribundos por 100 pg/mL de lipopolisacárido (LPS) en tres donantes humanos. El panel de la izquierda muestra la respuesta del donante individual, el panel de la derecha muestra el deterioro medio de la eferocitosis (%) de los tres donantes. La figura 7B muestra el rescate de esta endotoxina (LPS)– eferocitosis alterada de neutrófilos moribundos por macrófagos humanos en presencia de la proteína de fusión terapéutica FP278. Los índices de eferocitosis de 3 donantes de macrófagos humanos diferentes se normalizaron y se representaron como eferocitosis (%).

La **Figura 8** muestra el rescate de la alteración de la eferocitosis inducida por partículas de *S. aureus* de neutrófilos moribundos por macrófagos humanos con la proteína de fusión terapéutica FP278 (etiqueta EGF–HSA–C1–C2–His; SEQ ID NO: 44). La figura 8A muestra el efecto de una concentración de 100 nM de FP278 en la promoción de la eferocitosis sobre el nivel base (línea de puntos; parte izquierda de la figura) así como el efecto de 100 nM de FP278 en el rescate del deterioro de la eferocitosis causado por la administración de *S. aureus* (parte derecha de la figura). La Figura 8B muestra el efecto de concentraciones crecientes de la proteína de fusión FP278 (EC₅₀ 8 nM) sobre el rescate de la eferocitosis alterada causada por la administración de *S. aureus*, y sobre la promoción de la eferocitosis una vez que se alcanzaron los niveles básicos de eferocitosis.

La **Figura 9** muestra el efecto de la proteína de fusión terapéutica FP278 (etiqueta EGF–HSA–C1–C2–His; SEQ ID NO: 44) sobre la promoción de la eferocitosis de células Jurkat moribundas por células endoteliales humanas (HUVEC). La eficiencia de la proteína de fusión en el ensayo de eferocitosis de células endoteliales depende de la presencia de un dominio en tándem C1–C2 o C1–C1 dado que, como se ilustra en la Figura 9, una proteína de fusión de estructura EGF–HSA–C2 (FP270; SEQ ID NO: 36) es ineficaz en este ensayo.

La **Figura 10** muestra que la ubicación de un dominio HSA en la proteína de fusión terapéutica, es decir, en la posición N–o C–terminal (FP220 (HSA–EGF–C1–C2; SEQ ID NO: 30) o FP110 (EGF–C1–C2–HSA; SEQ ID NO: 28), respectivamente), confiere la función de bloqueo de la eferocitosis a la proteína de fusión MFG–E8 HSA en el ensayo

de eferocitosis de macrófagos. La concentración de proteína de fusión se muestra en el eje x, la eferocitosis [%] se muestra en el eje y.

La **Figura 11** muestra una comparación de la promoción de la eferocitosis mediante varios formatos de proteínas de fusión terapéuticas que comprenden un resto HSA o Fc. La concentración de la proteína de fusión se muestra en el eje x (nM), la eferocitosis [MFI] se muestra en el eje y. La Figura 11A muestra una comparación de proteínas de fusión que comprenden HSA con la HSA colocada en el C-terminal o N-terminal o entre los dominios de tipo EGF y C1; FP110 (EGF-C1-C2-HSA; SEQ ID NO: 28), FP220 (HSA-EGF-C1-C2; SEQ ID NO: 30) y FP278 (etiqueta EGF-HSA-C1-C2-de His; SEQ ID NO: 44), respectivamente. La figura 11B muestra una comparación de proteínas de fusión que comprenden un resto Fc con el Fc posicionado en el C-terminal (FP060 (EGF-C1-C2-Fc [S354C, T366W]; SEQ ID NO: 14) y FP080 (EGF-C1-C2-Fc; SEQ ID NO: 22)) o entre los dominios tipo EGF y C1 (FP070 (EGF-Fc-C1-C2; SEQ ID NO: 16)) en comparación con MFG-EG de tipo salvaje (SEQ ID NO: 1). Se muestran dos formatos de resto Fc: Fc de tipo salvaje (FP080; SEQ ID NO: 22) y un resto Fc con las modificaciones S354C y T366W (numeración EU; FP060; SEQ ID NO: 14). La Figura 11C muestra una comparación de tres lotes de la proteína de fusión FP090 (Fc-EGF-C1-C2; SEQ ID NO: 24) que comprende un resto Fc posicionado en el N-terminal, a tres concentraciones diferentes (0,72; 7,2 y 72 nM), en comparación con el control wt-MFG-E8. La Fig. 11D muestra la promoción de la eferocitosis por un constructo de proteína de fusión FP050 que comprende una HSA insertada entre el dominio similar a EGF y el dominio C1-C2 de EDIL3 (EGF-HSA-C1-C2 basado en EDIL3; SEQ ID NO: 12). La Figura 11E muestra ejemplos adicionales de proteínas de fusión de la descripción, por ejemplo variantes quiméricas (FP145; SEQ ID NO: 80, FP1145; SEQ ID NO: 103, FP146; SEQ ID NO: 82, FP1146) y combinaciones de los dominios de unión a integrina de MFGE8 o EDIL3 y dominios de unión a PS tales como el dominio V de IgSF de TIM4 o el dominio GLA de la proteína puente GAS6 (FP1147 y FP1148). La Figura 11F demuestra la función promotora de la eferocitosis de proteínas de fusión recombinantes compuestas como proteínas quiméricas que fusionan dominios de EDIL3 y MFG-E8 a un inserto de HSA. Los datos muestran que FP145 (SEQ ID NO: 80) y FP146 (SEQ ID NO: 82) indujeron la eferocitosis de neutrófilos moribundos por macrófagos humanos de una manera dependiente de la concentración. La Figura 11G demuestra la función promotora de la eferocitosis de proteínas de fusión recombinantes compuestas como proteínas

5 quiméricas que fusionan dominios de EDIL3 y MFG-E8 a un inserto de HSA. Los datos muestran que FP145 (SEQ ID NO: 80) y FP146 (SEQ ID NO: 82) indujeron la eferocitosis de células Jurkat moribundas por células endoteliales humanas (HUVEC) de una manera dependiente de la concentración.

La **Figura 12** muestra la promoción de la eferocitosis por células HUVEC de la proteína de fusión terapéutica FP278 (etiqueta EGF-HSA-C1-C2-His; SEQ ID NO: 44) 10 ensayada a 3 concentraciones diferentes hasta 30 nM. La promoción de la eferocitosis dependía de la concentración y la eferocitosis aumentaba a medida que aumentaba la concentración de la proteína de fusión FP278.

La **Figura 13** muestra que las proteínas de fusión terapéuticas FP330 (EGF-HSA-C1-C2; SEQ ID NO: 42; Fig 13A), FP278 (etiqueta EGF-HSA-C1-C2-His; SEQ ID NO: 44; Fig 13B) y FP776 (EGF-HSA-C1-C2; SEQ ID NO: 48; Fig 13C) pueden rescatar la eferocitosis alterada por endotoxina (lipopolisacárido) de neutrófilos moribundos por macrófagos humanos. La concentración de proteína de fusión se muestra en el eje x, la eferocitosis [%] se muestra en el eje y.

La **Figura 14** muestra el efecto de las proteínas de fusión FP330 (EGF-HSA-C1-C2; SEQ ID NO: 42; Fig 14A), FP278 (etiqueta EGF-HSA-C1-C2-His; SEQ ID NO: 44; Fig 14B) y FP776 (EGF-HSA-C1-C2; SEQ ID NO: 48; Fig 14C) sobre la promoción de la eferocitosis de células Jurkat moribundas por células endoteliales humanas (HUVEC). La concentración de proteína de fusión se muestra en el eje x, la eferocitosis [%] se muestra 25 en el eje y.

La **Figura 15** muestra que una dosis única de las proteínas de fusión terapéuticas FP278 (etiqueta EGF-HSA-C1-C2-His; SEQ ID NO: 44), FP330 (EGF-HSA-C1-C2; SEQ ID NO: 42) o FP776 (EGF-HSA-C1-C2; SEQ ID NO: 48) protege la función renal en un modelo de lesión renal aguda (AKI) inducida por lesión por isquemia-reperfusión. La 30 Figura 15A muestra que un aumento en la creatinina sérica (sCr) (mg/dL; eje y) se reduce mediante la administración intraperitoneal (i.p.) de 0,16 mg/kg o 0,5 mg/kg de FP278 (SEQ ID NO: 44) (eje x). Como se muestra en la Fig. 15B, la administración intravenosa (i.v.) de 0,5 mg/kg o 1,5 mg/kg de la proteína de fusión FP330 (SEQ ID NO: 42) redujo significativamente los niveles de creatinina sérica. La Figura 15C muestra que la 35 administración i.v. de la proteína de fusión FP776 (SEQ ID NO: 48) redujo la creatinina sérica de una manera dependiente de la dosis.

La **Figura 16** muestra que una dosis única de la proteína de fusión terapéutica

5 FP278 (etiqueta EGF–HSA–C1–C2–His; SEQ ID NO: 44) de 0,16 mg/kg o 0,5 mg/kg, redujo los niveles de nitrógeno ureico en sangre (BUN) en un modelo murino de lesión renal aguda.

La **Figura 17** muestra que una dosis única de la proteína de fusión terapéutica FP278 (etiqueta EGF–HSA–C1–C2–His; SEQ ID NO: 44) protege órganos distantes de la
10 respuesta de fase aguda provocada por la IKA inducida por isquemia reperusión, basada en la expresión génica de marcadores de lesión. La Figura 17A ejemplifica tal respuesta inducida por AKI de proteína amiloide sérica (SAA) en el corazón murino y la Figura 17B ejemplifica tal respuesta inducida por AKI (SAA) en el pulmón murino, las cuales se bloquearon de forma potente después de una sola inyección i.p. de la proteína de fusión
15 FP278 (SEQ ID NO: 44) derivada de MFGE8 a 0,16 mg/kg o 0,5 mg/kg/i.p.

La **Figura 18** muestra la captación del agente de contraste de óxido de hierro superparamagnético (SPIO) (Endorem®) por el hígado a lo largo del tiempo. Endorem® se inyectó por vía intravenosa como un bolo durante 1,2 s en animales con AKI (24 h después de la inducción de la enfermedad) o después de la operación simulada (animales
20 después de 24 h de nefrectomía). Los animales con AKI mostraron una absorción significativamente reducida del agente de contraste por el hígado (objetivo = células de Kupffer) en comparación con los animales simulados. Tratamiento con la proteína de fusión FP776 (EGF–HSA–C1–C2; SEQ ID NO: 48) se dosifica profilácticamente –30 min antes de la inducción de AKI, o se dosifica terapéuticamente +5 h después de la inducción
25 de lesión por reperusión isquemia, se protege de la pérdida de acumulación de agente de contraste en el hígado de ratones con AKI.

Descripción Detallada

En el presente documento se describen proteínas de fusión terapéuticas que
30 comprenden un dominio de unión a integrina, un dominio de unión a PS y un dominio de solubilización. También se describen en el presente documento métodos de tratamiento que utilizan las proteínas de fusión de la descripción, así como ensayos, tales como un ensayo de eferocitosis, útiles para la caracterización de las proteínas de fusión.

Definiciones

35 Para que la presente descripción pueda entenderse más fácilmente, ciertos términos se definen específicamente a lo largo de la descripción detallada. A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en este

5 documento tienen el mismo significado que el que entienden comúnmente los expertos en la técnica a la que pertenece esta descripción.

En todos los casos en los que el término "comprender", "comprende", "que comprende" o similares se utilizan en referencia a una secuencia (por ejemplo, una secuencia de aminoácidos), se entenderá que dicha secuencia también puede estar limitada por el término 'consistir', 'consiste', 'que consiste' o similares. Como se utiliza en este documento, la frase "que consiste esencialmente en" se refiere a los géneros o especies de agentes farmacéuticos activos incluidos en un método o composición, así como a cualquier excipiente inactivo para el propósito pretendido de los métodos o composiciones. En algunos aspectos, la frase "que consiste esencialmente en" excluye expresamente la inclusión de uno o más agentes activos adicionales distintos de una molécula de unión multiespecífica de la presente descripción. En algunos aspectos, la frase "que consiste esencialmente en" excluye expresamente la inclusión de uno o más agentes activos adicionales distintos de una molécula de unión multiespecífica de la presente descripción y un segundo agente co-administrado.

20 El término 'eferocitosis' como se utiliza en este documento se refiere a un proceso en biología celular, en donde las células moribundas o muertas, tales como las células apoptóticas o necróticas o envejecidas o células altamente activadas o las vesículas celulares extracelulares (micropartículas) o desechos celulares, llamados colectivamente "presa", se eliminan mediante fagocitosis, es decir se absorben por una célula fagocítica y digeridos. Durante la eferocitosis, las células fagocíticas sujetan y absorben activamente a la presa, generando vesículas intracelulares grandes llenas de líquido que contienen la presa llamada eferosoma, lo que da como resultado un compartimento lisosómico donde se inicia la degradación de la presa. Durante la apoptosis, la eferocitosis asegura que las células moribundas se eliminen antes de que la integridad de su membrana se vea comprometida y su contenido pueda filtrarse a los tejidos circundantes, evitando la exposición de los tejidos circundantes a DAMP como enzimas tóxicas, oxidantes y otros componentes intracelulares como ADN, histonas y proteasas. Las células fagocíticas profesionales incluyen células de origen mieloide tales como macrófagos y células dendríticas, pero otras, por ejemplo las células del estroma, también pueden realizar eferocitosis como células epiteliales y endoteliales y fibroblastos. La eferocitosis deteriorada se ha relacionado con enfermedades autoinmunes y daño tisular y se ha demostrado en enfermedades como fibrosis quística, bronquiectasia, EPOC, asma,

5 fibrosis pulmonar idiopática, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, glomerulonefritis y aterosclerosis (Vandivier RW *et al* (2006) Chest, 129(6): 1673–82). Ninguna terapia que promueva específicamente la eferocitosis ha ingresado a las clínicas hasta la fecha.

El término "ensayo de eferocitosis" como se utiliza en este documento y como se describe en los ejemplos se refiere a un sistema de ensayo desarrollado para el perfil de proteínas de fusión, que utiliza macrófagos humanos o células endoteliales humanas (HUVEC) como células fagocíticas. Aquí se ejemplifica un ensayo de eferocitosis de macrófagos–neutrófilos, un ensayo de eferocitosis de células endoteliales–células Jurkat o un ensayo de eferocitosis de micropartículas de células endoteliales. Estos ensayos, como se describen con más detalle en los Ejemplos, se pueden utilizar para demostrar que los bioterapéuticos derivados de MFG–E8, tales como las proteínas de fusión de la presente descripción, promueven eficazmente la eferocitosis de células y micropartículas moribundas por macrófagos o células endoteliales. Además, el ensayo de macrófagos–neutrófilos descrito es adecuado para demostrar que tales compuestos de esta invención pueden incluso rescatar la eferocitosis alterada por LPS o *S. aureus* de células moribundas.

Los términos "polipéptido" y "proteína" se utilizan indistintamente en este documento para referirse a un polímero de residuos de aminoácidos. Las frases también se aplican a polímeros de aminoácidos en los que uno o más residuos de aminoácidos es un mimético químico artificial de un aminoácido natural correspondiente, así como a polímeros de aminoácidos de origen natural y polímero de aminoácidos de origen no natural. A menos que se indique lo contrario, una secuencia polipeptídica particular también incluye implícitamente variantes modificadas de forma conservadora de la misma.

El término "pegajosidad" como se utiliza en este documento en relación con las proteínas de la presente descripción se refiere a un resultado del plegamiento incorrecto de proteínas que promueve la aglutinación o agregación de proteínas. Estos efectos no deseados y no funcionales son el resultado de interacciones hidrofóbicas superficiales.

Como se utiliza en este documento, "C-terminal" se refiere al aminoácido carboxilo terminal de una cadena polipeptídica que tiene un grupo carboxilo libre (–COOH). Como se utiliza en este documento, "N-terminal" se refiere al aminoácido amino terminal de una cadena polipeptídica que tiene un grupo amina libre (–NH₂).

5 Como se utiliza en este documento, el término "proteína de fusión" se refiere a una proteína que comprende varios dominios, que pueden no constituir una proteína completa natural o de tipo salvaje, pero pueden estar limitados a un dominio activo de la proteína completa responsable de unirse a un correspondiente receptor en la superficie de una célula. Las proteínas de fusión se pueden generar utilizando un diseño de proteína
10 recombinante, donde el término "proteína recombinante" se refiere a una proteína que se ha preparado, expresado, creado o aislado por medios de tecnología de ADN recombinante. La fusión en tándem, por ejemplo, se refiere a una técnica mediante la cual las proteínas o dominios de proteínas de interés se conectan simplemente de un extremo a otro mediante la fusión de los terminales N o C entre las proteínas. Esto proporciona
15 una estructura de puente flexible que permite suficiente espacio entre los compañeros de fusión para garantizar un plegado adecuado. Sin embargo, los extremos N o C del péptido son a menudo componentes cruciales para obtener el patrón de plegamiento deseado para la proteína recombinante, con el efecto de que la simple unión de los dominios de un extremo a otro puede ser ineficaz. Alternativamente, el proceso de inserción de dominios
20 implica la fusión de dominios proteicos consecutivos codificando estructuras deseadas en una única cadena polipeptídica y, a veces, la inserción de un dominio dentro de otro dominio. En los dos procesos mencionados anteriormente, los dominios están "directamente unidos" o "unidos directamente". La inserción del dominio es a menudo más difícil de realizar que la fusión en tándem debido a la dificultad de encontrar un sitio de
25 ligadura apropiado en el gen de interés.

Además de las técnicas de fusión de enlace directo mencionadas anteriormente, se puede utilizar un ligador externo para mantener la funcionalidad de los dominios proteicos en la proteína de fusión. Dicho ligador se refiere a un tramo de aminoácidos que conecta un dominio de proteína con otro dominio de proteína y se denomina en el
30 presente documento "ligador indirecto". Como tales, los dominios están "unidos indirectamente" o "unidos indirectamente". Por ejemplo, los expertos en la técnica apreciarán que un polipéptido cuya estructura incluye dos o más dominios funcionales u organizativos a menudo incluye un tramo de aminoácidos entre dichos dominios que los une entre sí. El ligador permite interacciones de dominio, refuerza la estabilidad y puede
35 reducir el impedimento estérico, lo que a menudo los hace preferidos para su uso en el diseño de proteínas manipuladas incluso cuando los extremos N y C pueden fusionarse. En algunas modalidades, un ligador se caracteriza porque tiende a no adoptar una

5 estructura tridimensional rígida sino que más bien proporciona flexibilidad al polipéptido. Se han utilizado varios tipos de ligadores de origen natural en proteínas manipuladas, por ejemplo, la región bisagra de inmunoglobulina, que funciona como un ligador en muchas proteínas terapéuticas recombinantes, particularmente en constructos de anticuerpos diseñados (Pack P *et al.*, (1995) J. Mol. Biol.,246: 28–34). Además de los ligadores
10 naturales, se han ideado una multitud de ligadores artificiales, que pueden subdividirse en tres categorías: ligadores flexibles, rígidos y escindibles *in vivo*. (Yu K *et al.*, (2015) Biotech. Advances, 33(1): 155–64; Chen X *et al.*, (2013) Ad. Drug Delivery Reviews, 65(10): 1357–69). Las secuencias ligadoras flexibles más utilizadas son (Gly)*n* (Sabourin *et al.*, (2007) Yeast, 24: 39–45) y (Gly₄Ser)*n* (SEQ ID NO: 64) (Huston *et al.*, 1988, 85:
15 5879–83) donde la longitud del ligador se puede ajustar mediante el número de copia "n". En algunas modalidades, un polipéptido que comprende un elemento ligador tiene una estructura general de la forma general D1–ligador–D2, en donde D1 y D2 pueden ser iguales o diferentes y representan dos dominios asociados entre sí por el ligador. En algunas modalidades, un ligador polipeptídico es al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12,
20 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100 o más aminoácidos en longitud.

Una 'modificación' o 'mutación' de un residuo/posición de aminoácido, como se utiliza en este documento, se refiere a un cambio de una secuencia de aminoácidos primaria en comparación con una secuencia de aminoácidos inicial, en donde el cambio
25 resulta de una alteración de secuencia que involucra a dicho residuo/posiciones de aminoácido. Por ejemplo, las modificaciones típicas incluyen la sustitución del residuo (o en dicha posición) con otro aminoácido (por ejemplo, una sustitución conservadora o no conservadora), la inserción de uno o más aminoácidos adyacentes a dicho residuo/posición y la eliminación de dicho residuo/posición. Una "sustitución" de
30 aminoácidos o variación del mismo se refiere a la sustitución de un residuo de aminoácido existente en una secuencia de aminoácidos predeterminada (inicial) con un residuo de aminoácido diferente. Generalmente y de modo preferente, la modificación da como resultado la alteración en al menos una actividad fisicobioquímica del polipéptido variante en comparación con un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de
35 partida (o "tipo salvaje").

El término "variante modificada de forma conservadora" se aplica tanto a las secuencias de aminoácidos como a las de ácidos nucleicos. Con respecto a secuencias

5 de ácidos nucleicos particulares, las variantes modificadas de forma conservadora se refieren a aquellos ácidos nucleicos que codifican secuencias de aminoácidos idénticas o esencialmente idénticas, o donde el ácido nucleico no codifica una secuencia de aminoácidos, a secuencias esencialmente idénticas. Debido a la degeneración del código genético, un gran número de ácidos nucleicos funcionalmente idénticos codifican cualquier proteína dada. Por ejemplo, los codones GCA, GCC, GCG y GCU codifican el aminoácido alanina. Por tanto, en cada posición en la que se especifica una alanina mediante un codón, el codón se puede alterar en cualquiera de los codones correspondientes descritos sin alterar el polipéptido codificado. Estas variaciones de ácido nucleico son "variaciones silenciosas", que son una especie de variaciones modificadas de forma conservadora. Cada secuencia de ácido nucleico en este documento que codifica un polipéptido también describe cada posible variación silenciosa del ácido nucleico. Un experto reconocerá que cada codón de un ácido nucleico (excepto AUG, que normalmente es el único codón para metionina, y TGG, que normalmente es el único codón para triptófano) puede modificarse para producir una molécula funcionalmente idéntica. Por consiguiente, cada variación silenciosa de un ácido nucleico que codifica un polipéptido está implícita en cada secuencia descrita.

Para las secuencias de polipéptidos, las "variantes modificadas de forma conservadora" incluyen sustituciones, deleciones o adiciones individuales a una secuencia de polipéptidos que dan como resultado la sustitución de un aminoácido por un aminoácido químicamente similar. Se conocen en la técnica tablas de sustitución conservativas que proporcionan aminoácidos funcionalmente similares. Dichas variantes modificadas de manera conservadora se suman y no excluyen variantes polimórficas, homólogos interespecies y alelos. Los ocho grupos siguientes contienen aminoácidos que son sustituciones conservativas entre sí: 1) Alanina (A), Glicina (G); 2) Ácido aspártico (D), Ácido glutámico (E); 3) Asparagina (N), Glutamina (Q); 4) Arginina (R), Lisina (K); 5) Isoleucina (I), Leucina (L), Metionina (M), Valina (V); 6) Fenilalanina (F), Tirosina (Y), Triptófano (W); 7) Serina (S), Treonina (T); y 8) Cisteína (C), Metionina (M) (véase, por ejemplo, Creighton, Proteins (1984)). En algunas modalidades, la frase "modificaciones de secuencia conservadoras" se utiliza para referirse a modificaciones de aminoácidos que no afectan o alteran significativamente las características de unión de los dominios de unión de las proteínas diseñadas de la presente divulgación.

5 Una 'variante de proteína' o 'variante de una proteína' como se hace referencia en este documento, se refiere a una proteína que comprende una variación en la que uno o más, por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 aminoácidos se han modificado. Una "variante funcional" de una proteína como se menciona en este documento, se refiere a una variante de proteína que comprende una modificación que da como resultado un cambio
10 en la secuencia de aminoácidos pero no hay cambio en la propiedad general de la proteína o en su función. Una "variante truncada" de una proteína como se hace referencia en este documento, se refiere a una versión abreviada de una proteína, pero la versión abreviada de la proteína conserva la función de la proteína original. Para determinar si una variante funcional o variante truncada no tiene ningún cambio en la
15 propiedad o función general, estas proteínas variantes pueden probarse frente a una proteína principal de longitud completa o no modificada para determinar su efecto en varios ensayos como se describe en la presente descripción. Por ejemplo, promover la eferocitosis por células endoteliales en un ensayo de eferocitosis de células endoteliales humanas—células Jurkat, restaurar la eferocitosis alterada por macrófagos en un ensayo
20 de eferocitosis de macrófagos humanos—neutrófilos, reducir el número de micropartículas plasmáticas por depuración en un ensayo de eferocitosis de micropartículas endoteliales humanas, y/o proporcionar protección contra lesión de múltiples órganos en un modelo de isquemia renal aguda.

Los términos "porcentaje de identidad" o "porcentaje de identidad de secuencia" en
25 el contexto de dos o más ácidos nucleicos o secuencias polipeptídicas, se refieren a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales. Dos secuencias son 'sustancialmente idénticas' y muestran 'identidad de secuencia' si dos secuencias tienen un porcentaje específico de residuos de aminoácidos o nucleótidos que son iguales (es decir, al menos 60% de identidad, opcionalmente al menos 65%, 70%, 75% , 80%, 85%, 90%, 95%, 96%,
30 97%, 98% o 99% de identidad en una región específica, o, cuando no se especifica, en toda la secuencia), cuando se compara y alinea para una máxima correspondencia sobre una ventana de comparación, o región designada, por ejemplo medido utilizando uno de los siguientes algoritmos de comparación de secuencias o mediante alineación manual e inspección visual. Opcionalmente, la identidad existe sobre una región que tiene al menos
35 aproximadamente 50 nucleótidos (o 10 aminoácidos) de longitud, o sobre una región que tiene de 100 a 500 o 1000, o 2000 o 3000 o más nucleótidos de longitud, o

5 alternativamente, 30 a 200, 300, 500, 700, 800, 900 o 1000 o más aminoácidos de longitud.

Para la comparación de secuencias, normalmente una secuencia actúa como secuencia de referencia, con la que se comparan las secuencias de prueba. Cuando se utiliza un algoritmo de comparación de secuencias, las secuencias de prueba y de
10 referencia se ingresan en una computadora, se designan coordenadas de subsecuencia, si es necesario, y se designan parámetros del programa del algoritmo de secuencia. Se pueden utilizar parámetros de programa predeterminados o se pueden designar parámetros alternativos. A continuación, el algoritmo de comparación de secuencias calcula el porcentaje de identidades de secuencia para las secuencias de prueba en
15 relación con la secuencia de referencia, basándose en los parámetros del programa.

El término “ventana de comparación”, como se utiliza en este documento, incluye referencia a un segmento de cualquiera de las posiciones contiguas de ácido nucleico o aminoácido seleccionadas del grupo que comprende de 20 a 600, generalmente de aproximadamente 50 a aproximadamente 200, más generalmente de aproximadamente
20 100 hasta aproximadamente 150 en donde se puede comparar una secuencia con una secuencia de referencia del mismo número de posiciones contiguas después de que las dos secuencias estén alineadas de manera óptima. Se conocen en la técnica métodos de alineación de secuencias para comparación. El alineamiento óptimo de secuencias para comparación puede realizarse, por ejemplo, mediante el algoritmo de homología local de
25 Smith y Waterman (1970) Adv. Appl. Math. 2: 482c, mediante el algoritmo de alineación por homología de Needleman y Wunsch (1970) J. Mol. Biol., 48: 443, mediante el método de búsqueda de similitudes de Pearson y Lipman (1988) PNAS USA, 85: 2444, mediante implementaciones computarizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA en el paquete de software de Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group,
30 575 Science Dr., Madison, WI), o mediante alineación manual e inspección visual (véase, por ejemplo, Brent *et al.*, (2003) Current Protocols in Molecular Biology).

Dos ejemplos de algoritmos que son adecuados para determinar el porcentaje de identidad de secuencia y similitud de secuencia son los algoritmos BLAST y BLAST 2.0, que se describen en Altschul *et al.*, (1977) Nuc. Acids Res., 25: 3389–3402; y Altschul *et al.*, (1990) J. Mol. Biol., 215: 403–410, respectivamente. El software para realizar análisis
35 BLAST está disponible públicamente a través del Centro Nacional de Información Biotecnológica.

5 El algoritmo BLAST también realiza un análisis estadístico de la similitud entre dos secuencias (véase, por ejemplo, Karlin y Altschul (1993) PNAS. USA, 90: 5873–5787). Una medida de similitud proporcionada por el algoritmo BLAST es la probabilidad de suma más pequeña ($P(N)$), que proporciona una indicación de la probabilidad por la cual se produciría una coincidencia entre dos secuencias de nucleótidos o aminoácidos por casualidad. Por ejemplo, un ácido nucleico se considera similar a una secuencia de referencia si la probabilidad de suma más pequeña en una comparación del ácido nucleico de prueba con el ácido nucleico de referencia es menos de aproximadamente 0,2, de modo más preferente menos de aproximadamente 0,01 y lo más preferente menos de aproximadamente 0,001.

15 El porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos también se puede determinar utilizando el algoritmo de E. Meyers y W. Miller (Comput. Appl. Biosci. 4: 11–17 (1988)) que se ha incorporado al programa ALIGN (versión 2.0), utilizando una tabla de residuos de peso PAM120, una penalización de longitud de brecha de 12 y una penalización de brecha de 4. Además, el porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos se puede determinar utilizando el algoritmo de Needleman & Wunsch (*supra*) que se ha incorporado en el programa GAP en el paquete de software GCG (disponible en www.gcg.com), utilizando una matriz Blossom 62 o una matriz PAM250, y un peso de brecha de 16, 14, 12, 10, 8, 6 o 4 y un peso de longitud de 1, 2, 3, 4, 5 o 6.

25 Un polipéptido es típicamente de modo sustancial idéntico a un segundo polipéptido, por ejemplo, cuando los dos péptidos difieren solo por sustituciones conservadoras. Otra indicación de que dos secuencias de ácido nucleico son sustancialmente idénticas es que las dos moléculas o sus complementos se hibridan entre sí en condiciones rigurosas.

30 El término "ácido nucleico" se utiliza aquí de manera intercambiable con el término "polinucleótido" y se refiere a desoxirribonucleótidos o ribonucleótidos y polímeros de los mismos en forma monocatenaria o bicatenaria. El término abarca ácidos nucleicos que contienen análogos de nucleótidos conocidos o residuos o enlaces de la estructura modificada, que son sintéticos, naturales y no naturales, que tienen propiedades de unión similares a las del ácido nucleico de referencia y que se metabolizan de una manera similar a la nucleótidos de referencia. Los ejemplos de tales análogos incluyen, sin limitación, fosforotioatos, fosforamidatos, metilfosfonatos, metilfosfonatos quirales, 2–O–metil ribonucleótidos, péptido–ácidos nucleicos (PNA).

5 A menos que se indique lo contrario, una secuencia de ácido nucleico particular también incluye implícitamente variantes modificadas de manera conservadora de la misma (por ejemplo, sustituciones de codones degenerados) y secuencias complementarias, así como la secuencia indicada explícitamente. Específicamente, las sustituciones de codones degenerados se pueden lograr generando secuencias en las
10 que la tercera posición de uno o más codones seleccionados (o todos) está sustituida con residuos de base mixta y/o desoxiinosina (Batzer *et al.*, (1991) *Nucleic Acid Res.*, 19: 5081; Ohtsuka *et al.*, (1985) *J Biol Chem.*, 260: 2605–2608; and Rossolini *et al.*, (1994) *Mol Cell Probes*, 8: 91–98). Como se utiliza en este documento, el término "secuencia de nucleótidos optimizada" significa que la secuencia de nucleótidos se ha alterado para
15 codificar una secuencia de aminoácidos utilizando codones que son preferidos en la célula de producción, por ejemplo una célula de ovario de hámster chino (CHO). La secuencia de nucleótidos optimizada está diseñada para retener por completo la secuencia de aminoácidos codificada originalmente por la secuencia de nucleótidos de partida, que también se conoce como secuencia "parental". En modalidades particulares,
20 las secuencias optimizadas en este documento se han diseñado para tener codones que se prefieren en las células CHO de mamíferos.

Proteínas de Fusión Terapéuticas

Dominios de unión a integrina

25 Las integrinas son receptores transmembrana que facilitan la adhesión célula–matriz extracelular (ECM). Tras la unión del ligando, las integrinas activan las vías de transducción de señales que median señales celulares como la regulación del ciclo celular, la organización del citoesqueleto intracelular y el movimiento de nuevos receptores a la membrana celular (Giancotti & Ruoslahti (1999) *Science*, 285 (5430):
30 1028–32). La presencia de integrinas permite respuestas rápidas y flexibles a eventos en la superficie celular. Existen varios tipos de integrinas y una célula puede tener múltiples tipos diferentes en su superficie. Las integrinas tienen dos subunidades: α (alfa) y β (beta), cada una de las cuales penetra la membrana plasmática y posee varios dominios citoplasmáticos (Nermut MV *et al* (1988). *EMBO J.*, 7 (13): 4093–9). Un aminoácido ácido
35 se presenta en el sitio de interacción de la integrina de muchas proteínas ECM, por ejemplo, como parte de la secuencia de aminoácidos Arginina–Glicina–Ácido aspártico ("RGD" en el código de aminoácidos de una letra). El motivo RGD se ha encontrado en

5 numerosas proteínas de la matriz como fibronectina, fibrinógeno, vitronectina y osteopontina y ayuda en la adhesión celular. El motivo RGD se encuentra en una serie de proteínas en un dominio proteico conservado conocido como dominio similar a EGF, que deriva su nombre del factor de crecimiento epidérmico donde se describió por primera vez. El dominio similar a EGF es uno de los dominios más comunes que se encuentran en

10 proteínas extracelulares (Hidai C (2018) Open Access J Trans Med Res., 2 (2): 67–71) y algunos ejemplos de dominios similares a EGF que contienen un motivo RGD se enumeran a continuación en la Tabla 1.

Tabla 1: Ejemplos de proteínas que comprenden proteínas de dominio de tipo EGF que

15 contienen un motivo de integrina RGD

Abreviatura	UniProtKB	Nombre	Referencia
EDIL3	O43854	EGF como repetición y dominio discoidina 3	Schürpf T <i>et al.</i> , (2012)
MFG–E8	Q08431	Proteína de factor 8 de glóbulos de grasa de leche–EGF	Taylor MR <i>et al.</i> , (1997)
NRG1	Q02297	Neuregulina–1	Leguchi K <i>et al.</i> , (2010)
IGFBP–1	P08833	Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 1	Haywood NJ <i>et al.</i> , (2017)
P2Y2R	P41231	Receptor de nucleótidos P2Y2	Erb L <i>et al.</i> , (2001)

El término 'dominio de unión a integrina' como se utiliza en el presente documento se refiere a un tramo de aminoácidos, o dominio de proteína, que tiene la función de

20 unirse a integrinas. En una modalidad de la presente descripción, 'dominio de unión a integrina' como se utiliza en este documento se refiere a un tramo de aminoácidos, o dominio proteico, que tiene la función de unirse a las integrinas y que comprende un motivo RGD. En una modalidad de la presente descripción, el dominio de unión a integrina es un dominio similar a EGF de MFG–E8 humano que tiene la secuencia de

25 aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 2. En una modalidad alternativa de la presente descripción, el dominio de unión a integrina es un dominio similar a EGF de EDIL3 humano (cualquiera de las siguientes secuencias: SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 100, o

5 SEQ ID NO: 101); por ejemplo, donde los dominios similares a EGF se pueden encontrar dentro del tramo de aminoácidos 1–132 de la SEQ ID NO: 11.

El término "se une a integrinas" como se utiliza en este documento se refiere a una actividad de unión a integrinas. La actividad de unión a integrina se puede determinar mediante métodos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, se describe un ensayo de
10 adhesión de integrina en los Ejemplos, sección 3.2, en donde se determinó la adhesión de células de linfoma que expresan integrina $\alpha\beta 3$ marcadas con fluorescencia a proteínas de fusión terapéuticas de la presente descripción. Se considera que un dominio de unión a integrina tiene actividad de unión a integrina si tiene al menos un 10%, como por ejemplo al menos el 25%, al menos el 50%, al menos el 75%, de modo más preferente al
15 menos el 80%, tal como al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98% de la actividad de unión a integrina como se observa para la proteína MFG–E8 humana (SEQ ID NO: 1) cuando se prueba mediante el mismo método de determinación de la actividad respectiva, de modo preferente cuando se prueba utilizando el ensayo descrito en los Ejemplos, sección 3.2.

20 *Dominios de unión a fosfatidilserina*

"Fosfatidilserina" (PS), como se utiliza en este documento, se refiere al fosfolípido, que es un componente de la membrana celular. La PS se limita principalmente a la valva interna de la membrana celular, mientras que la fosfatidilcolina y la esfingomieline se
25 localizan en gran parte en la valva externa. La distribución asimétrica de los fosfolípidos se mantiene mediante la acción de las flipasas (P4–ATPasas como ATP11A y 11C) en la membrana plasmática para translocar activamente la PS desde la valva exterior a la valva interior. La exposición de la superficie celular de PS se observa no solo en células apoptóticas, sino también en linfocitos activados, plaquetas activadas, eritrocitos
30 envejecidos y algunas células cancerosas y las micropartículas respectivas (Sakuragi *et al.*, (2019) PNAS USA, 116(8): 2907–12). La exposición a PS puede ser un biomarcador de un estado patológico protrombótico, inflamatorio o isquémico (Pasalic *et al.*, (2018) J Thromb Haemost., 16(6): 1198–2010; Ma *et al.*, (2017) *supra*; Zhao *et al.*, (2016) *supra*. PS tiene una función en una multitud de vías de señalización celular y como fosfolípido
35 esencial en la coagulación donde puede actuar como potenciador en la formación de la tenasa (factores IXa, VIIIa y X) y protrombinasa (factores Xa, Va y protrombina) complejos (Spronk *et al.*, (2014) Thromb Res. 133 (Suppl 1): S54–6). Posiblemente la función más

- 5 conocida de la PS externalizada sigue siendo el marcador “cómeme” (*'eat-me'*) para células fagocíticas como los macrófagos para absorber células apoptóticas, restos celulares o células activadas que exponen PS. El término 'dominio de unión a fosfatidilserina' o 'dominio de unión a PS', como se usa en este documento, se refiere a un tramo de aminoácidos, o dominio de proteína, que tiene la función de unirse a PS En la
- 10 Tabla 2 a continuación se pueden encontrar ejemplos de proteínas endógenas con dominios de unión a PS.

Tabla 2: Ejemplos de receptores/proteínas con dominios de unión a fosfatidilserina

Abreviatura	UniProt	Nombre	Dominio de unión a PS putativo	Referencia
EDIL3	O43854	EGF como repeticiones y dominios de discoidina 3	Dominios de discoidina C1–C2	Dasgupta et al., (2012)
MFG–E8	Q08431	proteína de factor 8 de glóbulos de grasa de la leche, lactadherina	Dominios de discoidina C1–C2	Andersen et al., (2000)
BAI1	O14514	Inhibidor de la angiogénesis específico del cerebro 1	Repeticiones de trombospondina tipo 1	Park et al., (2007)
TIM1	Q96D42	Inmunoglobulina de células T y proteína que contiene dominio de mucina 1	Dominio IgSF–V	Kobayashi et al., (2007)
TIM3	Q8TDQ0	Inmunoglobulina de células T y proteína 3 que contiene dominio de mucina	Dominio IgSF–V	Cao et al., (2007)
TIM4	Q96H15	Inmunoglobulina de células T y proteína 4 que contiene dominio de mucina	Dominio IgSF–V	Kobayashi et al., (2007)
Stab1/Stab2	Q9NY15/ Q8WWQ8	Stabilina–1 y –2	Repeticiones de dominios similares a EGF (EGFrps) en la región extracelular	Park SY et al., (2009)
TLT2	Q5T2D2	Receptor de activación expresado en la proteína 2 similar a las células mieloides	Dominio IgSF	de Freitas et al., (2012)
TREM2	Q9NZC2	Receptor activador expresado en células	Dominio IgSF–V	Takahashi et al., (2005)

		mieloides 2		
CD300a	Q9U6N4	Molécula CD300a	Dominio IgSF-V	Simhadri <i>et al.</i> , (2012)
RAGE	Q15109	Receptor para productos finales de glicación avanzada		He <i>et al.</i> , (2011)
AxV	P08758	Anexina V		Ravanat <i>et al.</i> , (1992)
PSR		Receptor de fosfatidilserina		Mo <i>et al.</i> , (2003)
CD36	P16671	Glicoproteína plaquetaria 4,		Banesh <i>et al.</i> , (2018)
CD68	P34810	Receptor depurador Clase D		Chistiakov <i>et al.</i> , (2017)

5

En una modalidad de la presente descripción, el dominio PS se deriva de MFG-E8 humano que tiene la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 76. En una modalidad alternativa de la presente descripción, el dominio de unión a la integrina es un dominio de unión a PS de EDIL3 humana (SEQ ID NO: 11), donde el dominio de unión a PS comprende los aminoácidos 135–453 de la SEQ ID NO: 11.

10

La actividad de unión a PS se puede determinar mediante métodos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, se describe un ensayo de unión a PS en los Ejemplos, sección 3.1, en el que se evaluó la unión de proteínas de fusión de la presente descripción a PS recubiertas en placas de microtitulación compitiendo contra la unión de MFG-E8 murino biotinilado. De acuerdo con la presente descripción, se considera que un dominio de unión a PS tiene actividad de unión a PS si tiene al menos un 10%, tal como por ejemplo al menos 25%, al menos 50%, al menos 75%, al menos 80%, de modo preferente al menos 90%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% de la actividad de unión a PS como se observa para la proteína MFG-E8 humana mostrada en la SEQ ID NO: 1 cuando se prueba mediante el mismo método de determinación de la actividad respectiva, de modo preferente cuando se prueba utilizando el ensayo descrito en los Ejemplos, sección 3.1.

15

20

Proteínas puente

25

Hay una serie de proteínas endógenas que comprenden tanto un dominio de unión

5 a integrina como un dominio de unión a PS. En la Tabla 3 a continuación se muestran ejemplos de tales "proteínas puente".

Tabla 3: Proteínas puente que contienen dominios de unión tanto a integrina como a fosfatidilserina

Abreviatura	UniProt	Nombre	Dominio de unión a PS putativa	Receptor en fagocitos	Referencia
EDIL3 (DEL-1)	O43854	Repeticiones tipo EGF y dominios de discoidina 3	Dominios de discoidina C1-C2	Integrinas ($\alpha v-\beta 2$)	Dasgupta <i>et al.</i> , (2012)
MFG-E8	Q08431	proteína de factor 8 de glóbulos de grasa de la leche, lactadherina	Dominios de discoidina C1-C2	integrinas ($\alpha v\beta 3/b5 \alpha 8\beta 1$)	Andersen <i>et al.</i> , (2000)
Pros1	P07225	Proteína S	Dominio del ácido γ -carboxiglutámico (Gla)	Tyro3 y Mer "factor de anticoagulación"	Stitt <i>et al.</i> , (1995)
Gas6	Q14393	Proteína específica de detención del crecimiento 6	Dominio Gla	Tyro3, Mer y AXL	Stitt <i>et al.</i> , (1995)

10

Para que tenga valor terapéutico, es útil si la proteína puente comprende un dominio de unión a integrina que reconoce integrinas en fagocitos que normalmente no son sensibles a la escisión o desprendimiento proteolítico como se ha observado en miembros de la familia TAM u otros receptores de unión a PS. Se ha demostrado que una proteína con un dominio de unión a PS y un dominio de unión a integrina, por ejemplo, MFG-E8 o su parólogo EDIL3/DEL1, induce eferocitosis *in vitro* y, por lo tanto, podría tener valor terapéutico como inductores de eferocitosis en AOI. Por el contrario, la proteína GAS6, por ejemplo, puede no ser particularmente eficaz para promover la eferocitosis en las AOI porque su receptor en los fagocitos (MerTK) se escinde proteolíticamente durante la inflamación y la infección, como se describe anteriormente.

Un ejemplo de una proteína puente, como se enumera en la Tabla 3 anterior, es MFG-E8, que es una de las principales proteínas que se encuentran en la membrana del glóbulo de grasa de la leche (MFGM). MFG-E8 se expresa y secreta por varios tipos diferentes de células (por ejemplo, células epiteliales mamarias, células vasculares, células epiteliales del epidídimo, células del músculo liso aórtico, macrófagos activados,

25

5 endometrio estimulado y células dendríticas inmaduras) y tejidos (por ejemplo, corazón, pulmones, glándulas mamarias, bazo, intestinos, hígado, riñón, cerebro, sangre y endotelio). La proteína MFG-E8 también se conoce por varios nombres diferentes, como lactadherina, BP47, componentes 15/16, MFGM, MGP57/53, PAS-6/PAS-7 glicoproteína, proteína de la pared celular SED1, proteína de la superficie del espermatozoide SP47, antígeno del epitelio mamario BA46 y O-acetil GD3 gangliósido sintasa (AGS). El gen MFG-E8 se encuentra en el cromosoma 1 en ratas, el cromosoma 7 en ratones y el cromosoma 15 en humanos. El corte y empalme alternativo del pre-ARNm de MFG-E8 da como resultado tres isoformas de la proteína humana y dos formas de ARNm, las variantes largas y cortas se expresan en las glándulas mamarias de ratón. El gen humano MFG-E8 (UniProtKB – Q08431) codifica una proteína que tiene 387 residuos de largo que se procesa para formar múltiples productos proteicos. La secuencia de aminoácidos del MFG-E8 humano, que comprende el péptido señal (residuos 1–23; subrayado), dominio similar a EGF (residuos 24–67; en cursiva), dominio C1 (residuos 70–225; negrita) y dominio C2 (residuos 230–387; negrita y subrayado), se proporciona a continuación:

20 MPRPRLAAL CGALLCAPSL LVALDICKSKN PCHNGGLCEE ISQEVGRGDVF
PSYTCTCLKG YAGNHCETKC VEPLGLENGN IANSQIAASS VRVTFLGLQH
WVPELARLNR AGMVNAWTPS SNDDNPWIVQV NLLRRMWVTG VVTQGASRLA
SHEYLKAFKV AYSLNGHEFD FIHDVNKKHK EFVGNWNKNA VHVNLFTPTV
EAQYVRLYPT SHTACTLRF ELLGCELNGC ANPLGLKNNS IPDKQITASS
25 SYKTWGLHLF SWNPSYARLD KQGNFNAWVA GSYGNDQWLQ VDLGSSKEVT
GIITQGARNF GSVQFVASYK VAYSNDSANW TEYQDPRTGS SKIFPGNWDN
HSHKKNLFET PILARYVRIL PVAWHNRIAL RLELLGC (SEQ ID NO: 1).

MFG-E8 carece de la función transmembrana que tiene MFGM y, por lo tanto, sirve como proteína de membrana periférica. El MFG-E8 humano consta de un dominio similar al EGF N-terminal (SEQ ID NO: 2) que se une a las integrinas $\alpha\beta 3$ y $\alpha\beta 5$ expresadas en fagocitos y un dominio de unión a PS (SEQ ID NO: 3) que comprende dos F5/8-discoidina subdominios (C1 y C2) que se unen con alta afinidad a los fosfolípidos aniónicos. La unión a la integrina es el resultado del motivo RGD localizado en los residuos 46–48 de MFG-E8 humano (SEQ ID NO: 1). Las células apoptóticas, los restos celulares, las células hiperactivadas y la mayoría de las micropartículas (MP) exponen PS y son objetivo de MFG-E8 que, actuando como molécula puente, opsoniza estas células y micropartículas y las une a las integrinas $\alpha\beta 3$ y $\alpha\beta 5$ en los fagocitos. Esta acción puente

5 desencadena un programa de absorción eficiente que conduce a la internalización de las células, los desechos y las micropartículas. Las proteínas que se encuentran en MFGM están altamente conservadas en todas las especies. La estructura de la proteína MFG-E8 varía según la especie; todas las especies actualmente conocidas contienen dos dominios C pero difieren en el número de dominios similares a EGF. Por ejemplo, la proteína MFG-E8 humana contiene un dominio similar a EGF, mientras que la MFG-E8 bovina y la MFG-E8 murina (SEQ ID NO: 68) tienen dos dominios similares a EGF, y el pollo, la rana y el pez cebra tienen tres dominios similares a EGF. Los dominios de MFG-E8, se han propuesto previamente como constituyentes de la terapéutica, en particular los dominios de unión a PS (Kooijmans *et al.*, (2018) *Nanoscale*, 10 (5): 2413–2426) y los fragmentos de MFG-E8 se han descrito para actuar en modelos de fibrosis (solicitud de patente estadounidense US2018/0334486).

La captación no flogística de células moribundas, restos y micropartículas por fagocitos profesionales y no profesionales juega un papel crítico en la homeostasis después de una lesión tisular (Greenlee - Wacker (2016) *supra*). La importancia de la depuración apropiada se hizo más evidente en modelos genéticos en los que los ratones knockout MFG-E8 mostraron, por ejemplo, un mayor número de células moribundas (no depuradas) en los tejidos, una respuesta inflamatoria exagerada en modelos de enfermedades como la sepsis neonatal, la autoinmunidad, la angiogénesis deficiente y la alteración curación de heridas (Hanayama *et al.*, (2004) *Science*, 204(5474): 1147–50; Das *et al.*, (2016) *J Immunol.*, 196(12): 5089–5100; Hansen *et al.*, (2017) *J Pediatr Surg.*, 52(9): 1520–7).

Además, se ha demostrado que MFG-E8 genera un entorno tolerogénico mediante la supresión de la activación y proliferación de células T, la inhibición de las subpoblaciones Th1, Th2 y Th17 al tiempo que aumenta los subconjuntos de células T reguladoras (Tregs). Curiosamente, las Treg contribuyen a la resolución de la inflamación al inducir eferocitosis por macrófagos (Proto *et al.*, (2018) *Immunity*, 49 (4): 666–77). Se ha descrito que MFG-E8 promueve el injerto alogénico de tejidos derivados de células madre embrionarias a través de la barrera MHC (Tan *et al.*, (2015) *Stem Cell Reports*, 5 (5): 741–752). MFG-E8 también tiene múltiples usos nutricionales, que ayudan a promover el desarrollo de tejidos y la protección contra agentes infecciosos. Las glicoproteínas como MFG-E8 son nutracéuticos potenciales que mejoran la salud para aplicaciones alimentarias y farmacéuticas. MFG-E8 también se puede combinar con otros

5 nutrientes (por ejemplo, probióticos, micelas de proteína de suero, ácido alfa-hidroxiisocaproico, citrulina y ácidos grasos de cadena ramificada).

Dominio de solubilización

10 Como se describe en el presente documento, las proteínas de fusión terapéuticas de la presente descripción comprenden un dominio de unión a integrina y un dominio de unión a PS. Además, las proteínas de fusión también comprenden un dominio adicional que confiere una serie de propiedades deseables a la proteína de fusión. Este dominio adicional, que se ha denominado "dominio de solubilización" para los fines de esta solicitud, confiere propiedades biológicas mejoradas, tales como mayor solubilidad, menor
15 agregación y mayor bioactividad. Como resultado, la proteína de fusión muestra perfiles farmacocinéticos deseables. Además, la presencia de un dominio de solubilización mejora la estabilidad de la proteína de fusión terapéutica y da como resultado una expresión mejorada de la proteína de fusión en comparación con la proteína de tipo salvaje en sistemas de expresión celular, como se muestra por un aumento en el rendimiento
20 después de la purificación.

La presencia de un dominio de solubilización también puede conferir una vida media prolongada a la proteína de fusión terapéutica. Por ejemplo, muchos fármacos proteicos están unidos al polietilenglicol (PEG), reCODE PEG, andamio de anticuerpos, ácido polisálico (PSA), hidroxietil almidón (HES) y proteínas séricas, tales como albúmina,
25 IgG y FcRn, para extender su vida media plasmática y para lograr efectos terapéuticos mejorados (Kim *et al.*, (2010) J Pharmacol Exp Ther., 334: 682–92; Weimer *et al.*, (2008) Thromb Haemost. 99: 659–67; Dumont *et al.*, (2006) BioDrugs, 20: 151–60; Schellenberger *et al.*, (2009) Nat Biotechnol., 27: 1186–90).

En algunas modalidades, el dominio de solubilización es una proteína de albúmina
30 tal como albúmina de suero humano (HSA; SEQ ID NO: 4) o variantes de la misma. Por ejemplo, HSA que comprende la sustitución de aminoácidos C34S para disminuir la propensión a la agregación (SEQ ID NO: 5), o dominios de HSA tales como HSA D3; (SEQ ID NO: 6). La HSA tiene una vida media sérica muy larga debido a varios factores, incluido su tamaño relativamente grande que reduce la filtración renal y su característica
35 de unión al receptor de Fc neonatal (FcRn), evitando así la degradación intracelular. También se ha propuesto el uso de fragmentos N-terminales de HSA para fusiones con polipéptidos (por ejemplo, solicitud de patente EP399666). Por consiguiente, la fusión o

5 conjugación genética o química de moléculas con albúmina puede estabilizar o extender la vida útil y/o retener la actividad de una molécula durante períodos prolongados de tiempo en solución, *in vitro* y/o *in vivo*. Se pueden encontrar métodos adicionales relacionados con fusiones de HSA, por ejemplo, en las solicitudes de patente internacional WO2001/077137 y WO2003/060071.

10 En algunas modalidades, el dominio de solubilización comprende un dominio Fc de anticuerpo tal como Fc–inmunoglobulina G1 humana (Fc–IgG1; SEQ ID NO: 7). El dominio Fc también puede modificarse, por ejemplo, utilizando modificaciones basadas en el botón en el ojal (KiH) para mejorar la heterodimerización de Fc mediante la introducción de sustituciones de aminoácidos complementarios en el dominio CH3 del Fc. Por ejemplo,

15 la sustitución T366W para crear un 'botón' en un dominio CH3 y las sustituciones T366S, L368A e Y407V para crear un 'ojal' en el otro dominio CH3 (Merchant *et al* (1998) Nat. Biotechnol., 16 (7): 677–81; numeración EU IgG1). Las modificaciones adicionales que se pueden incluir en el dominio Fc solas o combinadas con modificaciones para mejorar la heterodimerización pueden comprender, por ejemplo, sustituciones de aminoácidos en

20 cisteína para crear un enlace cisteína adicional, por ejemplo S354C y/o Y349C, y sustituciones de aminoácidos para reducir o eliminar la unión a los receptores Fcγ y complementar la proteína C1q, para "silenciar" la función efectora inmunitaria. La denominada doble mutación "LALA" (L234A junto con L235A; numeración EU) da como resultado funciones efectoras disminuidas (Lund *et al.*, (1992) Mol Immunol., 29: 53–9).

25 Alternativamente, la doble mutación "DAPA" (D265A junto con P329A; numeración de la EU) da como resultado funciones efectoras disminuidas. En una modalidad de la presente descripción, el dominio Fc puede comprender las sustituciones de aminoácidos D265A, P329A para el silenciamiento de Fc y/o las sustituciones de aminoácidos KiH T366W (botón) o T366S, L368A e Y407V (ojal). En una modalidad, el dominio Fc se deriva de

30 IgG1 humana y comprende las sustituciones de aminoácidos D265A, P329A (SEQ ID NO: 8). En otra modalidad, el dominio Fc se deriva de IgG1 humana y comprende las sustituciones de aminoácidos D265A, P329A, S354C y la sustitución de aminoácidos T366W (Fc–IgG1–botón; SEQ ID NO: 9). En otra modalidad, el dominio Fc se deriva de IgG1 humana y comprende las sustituciones de aminoácidos D265A, P329A, Y349C y las

35 sustituciones de aminoácidos T366S, L368A e Y407V (Fc–IgG1–ojal; SEQ ID NO: 10).

5 En algunas modalidades, el dominio de solubilización comprende un dominio Fc de anticuerpo derivado de IgA, IgD, IgE o IgM humanas.

En algunas modalidades, el dominio de solubilización comprende SUMO (Modificador de tipo ubiquitina pequeño), ubiquitina, GST (glutación S-transferasa) o variantes de los mismos.

10 *Unión y Orientación de Dominios de Proteínas de Fusión Terapéuticas*

El dominio de unión a integrina, el dominio de unión a PS y el dominio de solubilización de las proteínas de fusión de la presente descripción están unidos. Como se utiliza en este documento, el término "unido" o "que une" se refiere a un dominio de la

15 proteína de fusión que se une, directa o indirectamente, a otro dominio de la proteína de fusión. La unión directa es una forma de enlace y se denomina en el presente documento "fusionado" o "fusión". Utilizando una molécula que tiene la forma A–B–C como ejemplo: el dominio A está unido directamente al dominio B y unido directamente al dominio C. Como tal, el dominio A también puede describirse como fusionado al dominio B que está

20 fusionado al dominio C. Como otro ejemplo, el dominio A está unido directamente al dominio B e indirectamente unido al dominio C. Como tal, el dominio A también puede describirse como fusionado al dominio B, que está unido indirectamente por un ligador interno al dominio C.

En algunas modalidades, el enlace es un enlace directo y, por tanto, los dominios

25 están fusionados entre sí. En algunas modalidades, un dominio de unión a integrina se fusiona con un dominio de unión a PS que se fusiona con un dominio de solubilización. Específicamente, el dominio de unión a PS (por ejemplo, subdominios de discoidina C1–C2) se fusiona con el extremo C-terminal del dominio de unión a integrina (por ejemplo, un dominio similar a EGF) y se fusiona con el extremo N-terminal del dominio de

30 solubilización (por ejemplo, HSA). En algunas modalidades, un dominio de solubilización se fusiona con un dominio de unión a integrina que se fusiona con un dominio de unión a PS. Específicamente, el dominio de unión a integrina (por ejemplo, un dominio similar a EGF) se fusiona con el extremo C-terminal del dominio de solubilización (por ejemplo, HSA) y se fusiona con el extremo N-terminal del dominio de unión a PS (por ejemplo,

35 subdominios de discoidina C1–C2). En algunas modalidades, un dominio de unión a integrina se fusiona con un dominio de unión a PS que comprende subdominios de discoidina C1–C2 y se inserta un dominio de solubilización entre el subdominio de

5 discoidina C1–C2. Específicamente, el término C del dominio de unión a la integrina (por ejemplo, un dominio similar a EGF) se fusiona con el término N del subdominio de discoidina C1 y el término C del subdominio de discoidina C1 se fusiona con el término N del dominio de solubilización (por ejemplo, HSA) y el C-terminal del dominio de solubilización se fusiona con el N-terminal del subdominio de discoidina C2. En otra
10 modalidad, un dominio de unión a integrina se fusiona con un dominio de solubilización que se fusiona con un dominio de unión a PS. Específicamente, el dominio de solubilización (por ejemplo, HSA) se fusiona al C-terminal del dominio de unión a integrina (por ejemplo, dominio similar a EGF) y al N-terminal del dominio de unión a PS (por ejemplo, subdominios de discoidina C1–C2). En una modalidad, HSA se fusiona con
15 el C-terminal de un dominio similar a EGF y se fusiona con el N-terminal del dominio de discoidina C1.

En algunas modalidades, el dominio de solubilización (por ejemplo, HSA) se fusiona entre un dominio de unión a integrina y un dominio de unión a PS. En algunas modalidades, el dominio de unión a integrina se localiza en el N-terminal de la proteína de fusión y el dominio de unión a PS se ubica en el C-terminal de la proteína de fusión.
20

En algunas modalidades, la proteína de fusión comprende una primera región que contiene un dominio de unión a integrina, por ejemplo dominio similar a EGF, una segunda región que contiene un dominio de solubilización (por ejemplo, HSA) y una tercera región que contiene el dominio de unión a PS, por ejemplo dominio de discoidina
25 C1 y/o C2. En algunas modalidades, el dominio de unión a integrina se localiza en el N-terminal de la proteína de fusión y el dominio de unión a PS se ubica en el C-terminal de la proteína de fusión.

En algunas modalidades, el dominio de solubilización (por ejemplo, HSA) se fusiona entre un dominio de unión a integrina y un dominio de unión a PS. En algunas modalidades, el dominio de unión a integrina se localiza en el N-terminal de la proteína de fusión y el dominio de unión a PS se ubica en el C-terminal de la proteína de fusión.
30

En algunas modalidades, la proteína de fusión comprende una primera región que contiene un dominio de unión a integrina, por ejemplo dominio similar a EGF, una segunda región que contiene un dominio de solubilización (por ejemplo, HSA o Fc) y una
35 tercera región que contiene el dominio de unión a PS, por ejemplo dominio de discoidina C1 y/o C2. En algunas modalidades, el dominio de unión a integrina está ubicado en el N-terminal de la proteína de fusión y el dominio de unión a PS está ubicado en el C-terminal

5 de la proteína de fusión.

En algunas modalidades, el dominio de solubilización es HSA.

En algunas modalidades, el dominio de solubilización es el anticuerpo Fc–inmunoglobulina G1 (Fc–IgG1; SEQ ID NO: 7).

En algunas modalidades, el dominio de solubilización (por ejemplo, HSA) es HSA
10 que comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 5, o una variante funcional de la misma.

En una modalidad preferida, HSA que comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 5 se fusiona con el C–terminal del dominio similar a EGF de MFG–E8 y se fusiona con el N–terminal del dominio de unión a PS de MFG–E8.

15 En una modalidad, la proteína de fusión comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 46 (FP068). En una modalidad, la proteína de fusión comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 48 (FP776).

En una modalidad alternativa, HSA que comprende una secuencia de aminoácidos
20 como se establece en la EC. ID. NO: 5 se fusiona con el C–terminal del dominio similar a EGF de EDIL3 y se fusiona con el N–terminal del dominio de unión a PS de EDIL3. En una modalidad, la proteína de fusión comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 70 (FP1068). En una modalidad, la proteína de fusión comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 69
25 (FP1776).

En algunas modalidades, el enlace se realiza mediante un ligador polipeptídico y un ligador polipeptídico que, por ejemplo, une un dominio de solubilización a un dominio de unión a PS en una proteína de fusión de la presente descripción se denomina "ligador externo". Estos ligadores externos comprenden típicamente glicina (G) y/o serina (S) y
30 también pueden comprender glicina y leucina (GL) o glicina y valina (GL). En algunas modalidades, el ligador comprende múltiplos de residuos G y S, por ejemplo, G₂S y múltiplos del mismo como (G₂S)₄ como se establece en la SEQ ID NO: 62, (GS)₄ como se indica en la SEQ ID NO: 63, G₄S como se establece en la SEQ ID NO: 64 o (G₄S)₂ como se indica en la SEQ ID NO: 65.

35 En algunas modalidades, un ligador externo se fusiona entre el C–terminal de un dominio de unión a integrina y el N–terminal de un dominio de solubilización. Específicamente, un ligador externo se fusiona con el C–terminal de un dominio similar a

5 EGF y el N-terminal de HSA. En algunas modalidades, un ligador externo se fusiona entre el C-terminal de un dominio de solubilización y el N-terminal de un dominio de unión a PS. Específicamente, un ligador externo se fusiona con el C-terminal de HSA y el N-terminal del dominio de unión a PS. En algunas modalidades, un ligador externo se fusiona entre el C-terminal de un dominio de unión a integrina y el N-terminal de un
10 dominio de solubilización, y un ligador externo adicional se fusiona entre el C-terminal del dominio de solubilización y el N-terminal de un dominio de unión a PS. Específicamente, un ligador externo se fusiona con el C-terminal de un dominio similar a EGF y el N-terminal de HSA, y un ligador externo adicional se fusiona con el C-terminal de HSA y el N-terminal de un dominio de unión PS.

15 En algunas modalidades, un ligador externo que comprende GS se fusiona al C-terminal de un dominio de unión a integrina y al N-terminal de un dominio de solubilización. En algunas modalidades, un ligador externo que comprende GL se fusiona al C-terminal de un dominio de solubilización y al N-terminal de un dominio de unión a PS. En algunas modalidades, un ligador externo que comprende $(G_2S)_4$ (SEQ ID NO: 62)
20 se fusiona al C-terminal de un dominio de solubilización y al N-terminal de un dominio de unión a PS. En algunas modalidades, un ligador externo que comprende G_4S (SEQ ID NO: 64) se fusiona al C-terminal de un dominio de solubilización y al N-terminal de un dominio de unión a PS. En algunas modalidades, un ligador externo que comprende $(G_4S)_2$ (SEQ ID NO: 65) se fusiona al C-terminal de un dominio de solubilización y al N-
25 terminal de un dominio de unión a PS.

En una modalidad, un ligador externo que comprende GS se fusiona al C-terminal de un dominio similar a EGF y al N-terminal de HSA. Una proteína de fusión de la presente descripción que comprende esta estructura tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 42 (FP330).

30 En una modalidad, un ligador externo que comprende GS se fusiona al C-terminal de un dominio similar a EGF y al N-terminal de HSA, y se fusiona un ligador externo adicional que comprende $(GS)_4$ (SEQ ID NO: 63) al C-terminal de HSA y al N-terminal de un dominio de unión a PS.

En una modalidad, un ligador externo que comprende GS se fusiona al C-terminal
35 de un dominio similar a EGF y al N-terminal de HSA, y se fusiona un ligador externo adicional que comprende $(G_2S)_4$ (SEQ ID NO: 62) al C-terminal de HSA y al N-terminal de un dominio de unión a PS. Una proteína de fusión de la presente descripción que

5 comprende esta estructura tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 42 (FP330).

En una modalidad, un ligador externo que comprende GS se fusiona al C-terminal de un dominio similar a EGF y al N-terminal de HSA. El C-terminal de HSA se fusiona directamente con el N-terminal de un dominio de unión a PS.

10 En una modalidad, un ligador externo que comprende GS se fusiona al C-terminal de un dominio similar a EGF y al N-terminal de HSA, y un ligador externo adicional que comprende G₄S (SEQ ID NO: 64) se fusiona al C-terminal de HSA y al N-terminal de un dominio de unión a PS. Una proteína de fusión de la presente descripción que comprende esta estructura tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en SEQ ID NO:
15 54 (FP811).

En una modalidad, un ligador externo que comprende GS se fusiona al C-terminal de un dominio similar a EGF y al N-terminal de HSA, y se fusiona un ligador externo adicional que comprende (G₄S)₂ (SEQ ID NO: 65) al C-terminal de HSA y al N-terminal de un dominio de unión a PS. Una proteína de fusión de la presente descripción que
20 comprende esta estructura tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 56 (FP010).

En algunas modalidades, una etiqueta His se fusiona con un ligador externo que comprende GS (GS-6xHis; SEQ ID NO: 66) que se fusiona con el C-terminal de un dominio de unión a PS. En una modalidad, una proteína de fusión de la presente
25 descripción que comprende una etiqueta His tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 44 (FP278) o SEQ ID NO: 60 (FP114 o FP260).

Propiedades Funcionales de las Proteínas de Fusión Terapéuticas

La presente descripción proporciona proteínas de fusión derivadas de MFG-E8
30 humano y que son eficaces para promover la eferocitosis y, por lo tanto, son activas para eliminar los impulsores clave de la inflamación sistémica y la patología microvascular. Como se establece en los Ejemplos, se ha demostrado que las proteínas de fusión que tienen la estructura general EGF-HSA-C1-C2 son eficaces en varios ensayos de eferocitosis. Por ejemplo, las proteínas de fusión han demostrado ser eficaces para
35 restaurar la eferocitosis de macrófagos alterada por lipopolisacáridos (LPS) o *S. aureus* y potenciando la eferocitosis de micropartículas y células moribundas por las células endoteliales. Las proteínas de fusión también han demostrado ser eficaces para proteger

- 5 la función renal y proteger contra la pérdida de peso corporal en un modelo de ratón de lesión renal aguda.

Secuencias de Proteínas Ejemplares

- Las secuencias de aminoácidos de la Tabla 4 incluyen ejemplos de proteínas de fusión terapéuticas de la presente descripción, así como porciones de las mismas.

En todo el texto de esta solicitud, si hubiera una discrepancia entre el texto de la memoria descriptiva (por ejemplo, la Tabla 4) y la lista de secuencias, prevalecerá el texto de la memoria descriptiva.

15 **Tabla 4.** Secuencias de Proteínas Ejemplares

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
1	MFG-E8 Humano	MPRPRLAALCGALLCAPSLLVALDICKNPNCHNGGLCEEISQEVRGDVFPSYTC TCLKGYAGNHCETKCVEPLGLENGNIANSQIAASSVRVTFLGLQHWVPELARLN RAGMVNAWTPSSNDNDNPWIQVNLRRMWVTGVVTQGASRLASHEYLKAFKVA YSLNGHEFDHVDVKNKKHKEFVGNWNKNVHVNLFETPVEAQYVRLYPTSCHTA CTLRFELLGCELNGCANPLGLKNNIPDKQITASSSYKTWGLHLFSWNPSYARLD KQGNFNAWVAGSYGNDQWLQVDLGSSKEVTGIITQGARNFGSVQFVASYKVAY SNDSANWTEYQDPRTGSSKIFPGNWDNHSHKKNLFETPILARYVRILPVAWHNR IALRLELLGC
2	Dominio similar a EGF de MFG-E8	LDICKNPNCHNGGLCEEISQEV R GDVFPSYTCCTCLKGYAGNHCETK
3	Dominio de unión a PS de MFG-E8 (C1-C2 sub-dominios)	CVEPLGLENGNIANSQIAASSVRVTFLGLQHWVPELARLN RAGMVNAWTPSSNDNPWIQVNLRRMWVTGVVTQGASRLASHEYLKAFKVA YSLNGHEFDHVDVKNKKHKEFVGNWNKNVHVNLFETPVEAQYVRLYPTSCHT ACTLRFELLGCELNGCANPLGLKNNIPDKQITASSSYKTWGLHLFSWNPSYARLD KQGNFNAWVAGSYGNDQWLQVDLGSSKEVTGIITQGARNFGSVQFVASYKVAY SNDSANWTEYQDPRTGSSKIFPGNWDNHSHKKNLFETPILARYVRILPVAWHNR IALRLELLGC
4	HSA de tipo salvaje	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI ~~AF~~ QYLQ ~~Q~~ CPFEDHVKL ~~V~~ NEVTEFAKTCVA DESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDD NPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLEIARRHPYFYAPELFFAKRYKA AFTECCQAADKAACLLPKLDEL ~~R~~ DEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVA RLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT ~~KV~~ HTECCHGDLLECADD ~~R~~ ADLAKYICENQDSIS SKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFL GMFLYEYARRHPDYSVLLLR ~~L~~ AKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVE EPQNLIKQNC ~~E~~ LFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSK CCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSA LEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKA VMDDFAAFVEKCKADDKETCF ~~AE~~ EKGKKLVAASQAAL
5	HSA (C34S)	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI ~~AF~~ QYLQ ~~Q~~ SPFEDHVKL ~~V~~ NEVTEFAKTCVA DESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDD NPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLEIARRHPYFYAPELFFAKRYKA AFTECCQAADKAACLLPKLDEL ~~R~~ DEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVA

		RLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTQVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSIS SKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFL GMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVE EPQNLKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSK CCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSA LEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKA VMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAAL
6	HSA D3	LVEEPQNLKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVG SKCCKHPEAKRMPCAEDCLSVFLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCF SALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQL KAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL
7	Fc-IgG1 de tipo salvaje	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
8	Fc-IgG1 silente	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
9	Fc-IgG1 Botón	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
10	Fc-IgG1 Ojal	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKA KGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
11	EDIL3 Humano	DICDPNPCENGIGICLPGLADGSFSCECPDGFTDPNCSSVVEVASDEEEPTSAGP CTPNPCHNGGTCEISEAYRGDTFIGYVCKCPRGFNGIHCQHNINECEVEPCKNG GICTDLVANYSCECPGEFMGRNCQYKCSGPLGIEGGIISNQQITASSTHRALFGL QKWYPYARLNKKGLINAWTAAENDRWPMWQINLQRKMRVTGVITQGAKRIGSP EYIKSYKIAYSNDGKTWAMYKVKGTNEDMVFRGNIDNNTPYANSFTPIKAQYVR LYPQVCCRHCTLRMELLGCELSGCSEPLGMKSGHIQDYQITASSIFRTLNMDF TWEPRKARLDKQKGKVNAWTSGHNDQSQWLQVDLLVPTKVTGIITQGAKDFGHV QFVGSYKLAYSNDGEHWTVYQDEKQRKDKVFQGNFNDNTHRKNVIDPPIYARHI RILPWSWYGRITLRSELLGCTEEE
12	FP050 EDIL3 EGF– HSA–C1–C2	DICDPNPCENGIGICLPGLADGSFSCECPDGFTDPNCSSVVEVASDEEEPTSAGP CTPNPCHNGGTCEISEAYRGDTFIGYVCKCPRGFNGIHCQHNINECEVEPCKNG GICTDLVANYSCECPGEFMGRNCQYKGSDAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLIA FAQYLQQSPFEDHVKLNVETEFKTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVATL RETYGEMADCCAKQEPERNECFQHKDDNPPLRLVRPEVDVMCTAFHDNEET FLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTCECCQAADKAACLLPKLDELDE GKASSAKQRLKCSLQKGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTQVH TECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDE MPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAK TYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQNCLEFEQLGEYKFQNA LLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQL CVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICT LSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAE EGKKLVAASQAALGLGGSGGSGGSGGSGSGPLGIEGGIISNQQITASSTHRALF

		GLQKWYPYARLNKKGLINAWTAAENDRWPWIQINLQRKMRVTGVITQGAKRIG SPEYIKSYKIAYSNDGKTWAMYKVKGNTNEDMVFRGNIDNNTPYANSFTPIKAQY VRLYPQVCRRHCTLRMELLGCELSGCSEPLGMKSGHIQDYQITASSIFRTLND MFTWEPRKARLDKQGKVNAWTSGHNDQSQWLQVDLLVPTKVTGIITQGAKDFG HVQFVGSYKLAYSNDGEHWTVYQDEKQQRKDKVFQGNFDNDTHRKNVIDPPIYA RHIRILPWSWYGRITLRSELLGC
84	EDIL3 Dominio similar a EGF 1[EDIL3]–HSA– C1–C2[EDIL3]	DICDPNPCENGGICLPGLADGSFSCECPDGFTDPNCSSVVEVASDEEEPTGSDA HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLNVNEVTEFAKTCVADE SAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAF TECCQAADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARL SQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSK LKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLG MFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEE PQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKC CKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSAL EVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAV MDDFAAFVEKCCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGGSGGSGGSGGSCS GPLGIEGGIISNQQITASSTHRALFGLQKWYPYARLNKKGLINAWTAAENDRWP WIQINLQRKMRVTGVITQGAKRIGSPEYIKSYKIAYSNDGKTWAMYKVKGNTNEDM VFRGNIDNNTPYANSFTPIKAQYVRLYPQVCRRHCTLRMELLGCELSGCSEPL GMKSGHIQDYQITASSIFRTLNDMFTWEPRKARLDKQGKVNAWTSGHNDQSQ WLQVDLLVPTKVTGIITQGAKDFGHVQFVGSYKLAYSNDGEHWTVYQDEKQQRK DKVFQGNFDNDTHRKNVIDPPIYARHIRILPWSWYGRITLRSELLGC
85	EDIL3 Dominio similar a EGF 2[EDIL3]–HSA– C1–C2[EDIL3]	SAGPCTPNPCHNGGTCEISEAYRGDTFIGYVCKCPRGFNGIHCHQHGSDAHKSEV AHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLNVNEVTEFAKTCVADESAENC DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLV RPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQA ADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCE KPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYA RRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQ NCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKKHPEAK RMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYV PKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAF VEKCCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGGSGGSGGSGGSGGSCSGPLGIEGG IISNQQITASSTHRALFGLQKWYPYARLNKKGLINAWTAAENDRWPWIQINLQR KMRVTGVITQGAKRIGSPEYIKSYKIAYSNDGKTWAMYKVKGNTNEDMVFRGNID NNTPYANSFTPIKAQYVRLYPQVCRRHCTLRMELLGCELSGCSEPLGMKSGHI QDYQITASSIFRTLNDMFTWEPRKARLDKQGKVNAWTSGHNDQSQWLQVDLL VPTKVTGIITQGAKDFGHVQFVGSYKLAYSNDGEHWTVYQDEKQQRKDKVFQGN FDNDTHRKNVIDPPIYARHIRILPWSWYGRITLRSELLGC
86	EDIL3 Dominio similar a EGF 3[EDIL3]–HSA– C1–C2[EDIL3]	NINECEVEPCKNGGICTDLVANYSCCEPGEFMGRNCQYKGSDAHKSEVAHRFK DLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLNVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLH TLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEV DVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKA ACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFA EVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLL EKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRH PDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC LFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKKHPEAKRMP CAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKE FNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEK CKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGGSGGSGGSGGSGGSCSGPLGIEGGIISN

		QQITASSTHRALFGLQKWYPYYARLNKKGLINAWTAAENDRWPWIIQINLQRKMR VTGVITQGAKRIGSPEYIKSYKIAYSNDGKTWAMYKVKGKTNEDMVFRGNIDNNT YANSFTPIKAQYVRLYPQVCRRHCTLRMELLGCELSGCSEPLGMKSGHIQDYQ ITASSIFRTLNMDFMFTWEPRKARLDKQGVNAWTSQHNDQSQWLQVDLLVPTK VTGIITQGAKDFGHVQFVGSYKLAYSNDGEHWTVYQDEKQRKDKVFQGNFDND THRKNVIDPPIYARHIRILPWSWYGRITLRSSELLGC
87	EDIL3 Dominio similar a EGF 1–2[EDIL3]– HSA–C1– C2[EDIL3]	DICDPNPCENGGICLPGLADGSFSCECPDGFTDPNCSSVVEVASDEEEPT SAGPCTPNPCHNGGTCEISEAYRGDTFIGYVCKCPRGFNGIHCQHGS DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEP ERNECFLQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAA FTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKCASLQKFG ERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLV TDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSH CIAEVE NDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNC ELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRM PCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPK EFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVE KCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGGSGGSGGSGGSCSGPLGIEGGIIS NQQITASSTHRALFGLQKWYPYYARLNKKGLINAWTAAENDRWPWIIQINLQRK MRVTGVITQGAKRIGSPEYIKSYKIAYSNDGKTWAMYKVKGKTNEDMVFRGNIDN NTPYANSFTPIKAQYVRLYPQVCRRHCTLRMELLGCELSGCSEPLGMKSGHIQDY QITASSIFRTLNMDFMFTWEPRKARLDKQGVNAWTSQHNDQSQWLQVDLLVPT KVTGIITQGAKDFGHVQFVGSYKLAYSNDGEHWTVYQDEKQRKDKVFQGNFDN DTHRKNVIDPPIYARHIRILPWSWYGRITLRSSELLGC
88	EDIL3 Dominio similar a EGF 2–3[EDIL3]– HSA–C1– C2[EDIL3]	SAGPCTPNPCHNGGTCEISEAYRGDTFIGYVCKCPRGFNGIHCQH NINECEVEPCKNGGICTDLVANYSCCECPGEF MGRNCQYKGS DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEP ERNECFLQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAA FTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKCASLQKFG ERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLV TDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSH CIAEVE NDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNC ELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRM PCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPK EFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVE KCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGGSGGSGGSGGSCSGPLGIEGGIIS NQQITASSTHRALFGLQKWYPYYARLNKKGLINAWTAAENDRWPWIIQINLQRK MRVTGVITQGA KRIGSPEYIKSYKIAYSNDGKTWAMYKVKGKTNEDMVFRGNIDNNT PYANSFTPIKAQYVRLYPQVCRRHCTLRMELLGCELSGCSEPLGMKSGHIQDY QITASSIFRTLNMDFMFTWEPRKARLDKQGVNAWTSQHNDQSQWLQVDLLVPTK VTGIITQGAKDFGHVQFVGSYKLAYSNDGEHWTVYQDEKQRKDKVFQGNFDND THRKNVIDPPIYARHIRILPWSWYGRITLRSSELLGC
89	EDIL3 Dominio similar a EGF 1–3[EDIL3]– HSA–C1– C2[EDIL3]	DICDPNPCENGGICLPGLADGSFSCECPDGFTDPNCSSVVEVASDEEEPT NINECEVEPCKNGGICTDLVANYSCCECPGEF MGRNCQYKGS DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEP ERNECFLQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAA FTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKCASLQKFG ERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLV TDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSH CIAEVE NDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNC ELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRM PCAEDYL EYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYL

		SVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFT FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADD KETCFAEEGKKLVAAASQAALGLGGSGGSGGSGGSCSGLGIEGGIISNQKITAS STHRALFGLQKWYPYARLNKKGLINAWTAAENDRWPWIQINLQRKMRVTGVIT QGAKRIGSPEYIKSYKIAYSNDGKTWAMYKVKGNTEDMVFRGNIDNNTPYANSF TPPIKAQYVRLYPQVCRRHCTLRMELLGCELSGCSEPLGMKSGHIQDYQITASSI FRTLNMDFMTWEPRKARLDKQGVNAWTSQHNDQSQWLQVDLLVPTKVTGIIT QGAKDFGHVQFVGSYKLAYSNDGEHWTVYQDEKQRKDKVFQGNFDNDTHRKN VIDPPIYARHIRLPWSWYGRITLRSSELLGC
13	FP050 Ácido nucleico	gacatctgcgaccccaatccttgcgagaatggcgccattgtctgcctggactggccgatggcagcttcttctgtga atgccccgatggcttcacagaccccaattgcagctctgtgtggaagtggccagcgacgaggaagaacctaca agcgctggcccctgcacaccaatccatgtcataatggcggaacctgcgagatcagcgaggcctacagagggc ataccttcacggctacgtgtgcaagtgcacagaggctcaatggcatccactgccagcacaacatcaacgagt gcgaggtggaaccatgcaagaacggcgccatctgtaccgacctgttgcccaattactcttgcgagtgccctggc gagttcatgggcagaaactgccagtacaagggatccgacgctcacaagctgaggtggcccacagattcaagg acctgggcgaagagaactcaaggccctgtgtgctgacgcttcgctcagatctgcagcagagcccttgcagg accacgtgaagctggtcaacgaagtgcagaggttcgccaagacctgtgtggccgatgagagcgccgagaactg tgacaagagcctgcacacactgttcggcgacaagctgtgtaccgtggccactgagagaaacctacggcgag atggccgactgtgtgccaagcaagagccgagagaaacagagtgcttctcagcagcacaagacgacaacccc aacctgcctagactcgtgcgacccgaagtggatgtgatgtgcaccgcttcacgacaacgaggaaaccttctg aagaagtacctgtacgagatcgccagacggcaccctactttatgccctgagctgtgttcttcgccaagcggt taaggccgcttcaccgaatgttgccaggccgctgataaggctgcctgtctgtgccttaagctggacgagctgag agatgagggcaaagccagctctgccaagcagagactgaagtgcgccagcctgcagaagttcgcgagagag ctttaaggcctgggcccgttgccagactgagccagagatttctaaggccgagttgcccagggttccaagctcgtg accgatctgacaaaggtgcacaccgagtgctgtcacggcgatctgtggaatgtgccgacgatagagccgacct ggccaagtatatctgcgagaaccaggacagcatcagcagcaagctgaaagagtgctgcgagaagcccctgct ggaaaagtctcactgtatcgccgaggtgcgagaacgacgagatgcctgtgatctgcctagcctggccgcccatt cgtggaagcaaggtatgtgtcaagaactacggcgagccaaagatgtgttctgggcatgttctgtatgagtac gcccgcagacaccccgactattctgtgttctgtgtgtgcggctggccaagacatacagagacaacctggaaaa atgtctgcgcccgtgccgacctcacgagtggtatgccaaggtgttcgacgagttcaagccactggtggaagaacc ccagaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagctggcgagtagcaagttccagaatgcctgtctg tcgggtacaccaagaaagtgcctcaggtgtccacacctacactggttgaggtgtcccggaaatctgggcaaagtgg gcagcaagtgttgcaagcacctgaggccaagagaatgccttgcgccgaggattacctgagcgtggtgtgaat cagctgtgcgtgtgcacgagaaaaacctgtgtccgacagagtgaccaagtgtgtaccgagagcctcgtgaa cagaaggcctgtcttagcgccctggaagtggacgagacatacgtgccaaagagttaacgcccagacattca cctccacgcccgatctgcaccctgtccgagaaagagcggcagatcaagaagcagacagccctggctgagct ggttaagcacaagcccaaggccaccaaaagaacagctgaaggccgtgatggacgacttcgcccgttctgcgag aagtgtgcaaggccgacgacaaagagacatgcttcgccaagagggaagaaactggtggtgcctctcag gctgtctcggacttgaggaagcggaggatctggcggtccggaggaagtgttctggccctcttgatcgaag gcggcatcatcagcaatcagcagatcaccgcccagcagcaccacagagcactgtttgagctgcagaaatggt tcctactacgcccggctgaacaagaaggccgtgattaacgcttgacagccgcccagaaatgacagatggccc tggttcagatcaacctgcagcgggaagatgagagtgaccggcggtatcacacagggcgccaaaagaatcggc agccccgagtagcatcaagagctacaagatcgctacagcaacgacggcaagacctgggccatgtacaagt aagggcaccaacgaggaatggtgttcggggcaacatcgacaacaacaccccttacggccaacagcttacc cctcctatcaaggcccagtagctgcggctgtaccctcaagtgtgcagaaggcactgtaccctgagaatggaactg ctgggctgcgaactgtctggctgttctgagccactgggcatgaagtccggccacatccaggattaccagatcaca gcctccagcatcttcagaacctgaacatggatatgttccactgggagccccggaaggccagactggataagca gggaaaagtgaatgcttgaccagcgccacaaacgaccagtctcaatggctgcaagtggacctgctggtgcc accaaagtgaccggaatcattactcagggcgcaaggacttcggccacgtgcagtttgggctcctacaagctg gcctactccaacgatggcgagcactggacagtgatccaggacgagaagcagcgcaaggataaggtgttcag ggaaacttcgataacgataccaccggaagaacgtgatcgacctccaatctacgccagacacatcagaatcct gccttggcttggtagcggcagaatcacctgagatccgagctgctgggatgc
90	Ácido nucleico de SEQ ID NO:	gacatctgcgaccccaacccctgcgagaacggcgccatctgcctgcccggcctggccgacggcagcttcagct gcgagtgccccgacggcttcaccgaccccaactgcagcagcgtggtggaggtggccagcgacgagggaggag

84		cccaccggcagcgacgcccacaagagcgaggtggcccaccgggtcaaggacctgggagaggagaactcaa ggccctgggtgctgatcgcttcgcccagtagctgacgagagcccctcgaggaccagtgtaagctgggtaacg aggtgaccgagttcgccaagacctgctgtggccgacgagagcgccgagaactgagcaagagcctgcacacc ctgttcggcgacaagctgtgcaccgtggccaccctgctgggagacctacggcgagatggccgactgctgcgcca agcaggagcccagcggaacgagtgcttcctgcagcacaaggacgacaaccccaacctgccccggctggtg cggcccaggtggacgtgatgtgcaccgcttcacgacaacgaggagaccttcctgaagaagtacgtgtacg agatcgcccggcgccaccctacttctacgccccgagctgctgttctcgccaagcgggtacaaggccgcctca ccgagtgtgctgcaggccgcccagacaaggccgctgctgctgcccgaagctggacgagctgcccggacgagggc aaggccagcagcgccaagcagcggtgaagtgcgccagcctgcagaagttcgcgagcgggcctcaaggc ctgggcccgtggcccggctgagccagcggttcccaaggccgagttcgccgaggtgagcaagctgggtgaccgac ctgaccaaggtgcacaccgagtgctgccagggcgacctgctggagtgcgcccagcagccggccgacctggcc aagtacatctgcgagaaccaggacagcatcagcagcaagctgaaggagtgtgcgagaagcccctgtggag aagagccactgcatcgccgaggtggagaacgacgagatgcccgccacctgcccagcctggccgagcttc gtggagagcaaggacgtgtgcaagaactacgccgaggccaaggacgtgttctgggcatgttctgtacgagta cgcccggcgccaccccgactacagctgtgtgctgctgctgctgctggccaagacctacgagaccacctggag aagtgtgcgcccggccgacccccacgagtgctacgccaaggtgttcgacgagttcaagcccctggtggag agccccagaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagctgggagtgagtaagttccagaacgcct gctggtgcggtacaccaagaaggtgcccaggtgagcaccaccctggtggtgaggtgagccgaacctggg caaggtgggagcaagtgctgcaagcaccggaggccaagcggatgcctgcgcccaggtacctgagcgt gggtgctgaaccagctgtgctgctgcacgagaagacccccgtgagcgaccgggtgaccaagtgtgcaccga gagcctggtgaaccggcgccctgcttcagcgccctggaggtggacgagacctacgtgccaaggagttcaac gccgagaccttcacctccacgcccagatctgcaccctgagcgagaaggagcgccagatcaagaagcagacc gccctggtggagctggtgaagcacaagcccaaggccaccaaggagcagctgaaggccgtgatggacgacttc gccgccttcgtggagaagtgtgcaaggccgacgacaaggagacctgttcgcccagggagggcaagaagctg gtggccgcccagccaggccgcccctgggctgggcccagcgccgagcgccgagcgccgagcgccgagctgca gcccggccctgggcatcgagggcgccatcatcagcaaccagcagatcacccgagcagcaccaccggggcc ctgttcggcctgcagaagtgttaccctactacgcccggctgaacaagaaggccctgatcaacgcttgaccgc cgccgagaacgaccggtggccctggatccagatcaacctgcagcggaagatgcccgtgaccgctgatcac ccaggcgccaagcgatcgccagccccgagtagcatcaagagctacaagatgcctacagcaacgacggca agacctgggcatgtacaaggtgaagggcacaacgaggacatggtgtccggggcaacatcgacaacaaca ccccctacgccaacagcttcacccccccatcaaggccagtagctgctgctgtacccccaggtgtgcccggcg cactgcacctgcccgtgagctgctgggctgagctgagcggtgcagcgagccctgggcatgaagagc ggccacatccaggactaccagatcacggccagcagcatcttcggaccctgaacatggacatgttcacctggga gcccgggaaggcccggctggacaagcagggaaggtgaacgcctggaccagcgccacacgaccagag ccagtggctgcaggtggacctgctggtgcccaccaaggtgaccggcatcatcacccagggcgccaaggacttc ggccacgtgcagttcgtggcagctacaagctggcctacagcaacgacggcgagcactggaccgtgtaccag gacgagaagcagcggaaggacaaggtgtccagggaacttcgacaacgacaccaccggaagaacgtgat cgaccccccatctacgcccggcacatccggatcctgcccctggagctggtacggccgagatcacctgcccgagc gagctgctgggctgc
91	Ácido nucleico de SEQ ID NO: 85	agcgccggcccctgcaccccaaccctgccacaacggcgccacctgcgagatcagcgaggcctaccgggg cgacacctcatcggtacgtgtgcaagtgtccccggggcttaacggcatccactgccagcagcgagcgagc cccacaagagcgaggtggcccaccgggtcaaggacctgggagaggagaactcaaggccctggtgctgatcg ccttcgcccagtagctgcagcagagccccttcgaggaccagtgtaagctggtgaacgaggtgaccgagttcgcc aagacctgctgtggccgacgagagcgccgagaactgcgacaagagcctgcacacctgttcggcgacaagctg tgaccgtggccacctgcccggagacctacggcgagatggccgactgctgcgccaagcaggagcccagcg gaacgagtgcttctgcagcacaaggacgacaaccccaacctgcccggctggtgcccggcggaggtggacgt gatgtgaccgccttcacgacaacgaggagaccttctgaagaagtacctgtacgagatcgcccggcgccac cctacttctacgccccgagctgctgttcttcgccaagcggtacaaggccgcttcaccgagtgctgccaggccg ccgacaaggccgctgctgctgcccagctggacgagctgcccggacgagggcaaggccagcagcgccaa gcagcggtgaagtgcgcccagctgcagaagttcgccgagcgggccttaaggcctgggcccgtggcccggctg agccagcggttcccaaggccgagttcgccgaggtgagcaagctggtgaccgacctgaccaaggtgcacacc gagtgctgccacggcgacctgctgagtgccgacgacggggccgacctggccaagtacatctgcgagaac caggacagcatcagcagcaagctgaaggagtgtgcgagaagcccctgtggagaagagccactgcacgc

		gcaaccagcagatcaccgccagcagcaccaccgggcccctgttcggcctgcagaagtggtagccctactacgc ccggctgaacaagaagggcctgatcaacgcctggaccgcccgcgagaacgaccggtggccctggatccagat caacctgcagcgaagatgcgggtgaccggcgtgatcaccagggcgccaagcggatcggcagccccgagt acatcaagagctacaagatgcctacagcaacgacggcaagacctgggcatgtacaaggtgaagggcacc aacgaggacatggtgtccggggcaacatcgacaacaacacccccctacgccaacagctcacccccccatca aggccagtagctgcggctgtacccccaggtgtgccggcgccactgcacctgcggatggagctgtgtgggtgc gagctgagcggctgcagcgagccccctgggcatgaagagcggccacatccaggactaccagatcaccgccag cagcatctccggaccctgaacatggacatgttcacctgggagccccggaagggccggctggacaagcagggc aaggtgaacgcctggaccagcggccacaacgaccagagccagtggctgcaggtggacctgctggtgccacc aaggtgaccggcatcatcaccagggcgccaaggacttcggccacgtgcagttcgtgggcagctacaagctgg ctacagcaacgacggcgagcactggaccgtgtaccaggacgagaagcagcgggaaggacaaggtgtccag ggcaacttcgacaacgacaccaccggaagaacgtgatcgaccccccatctacgccgggcacatccggatc ctgccctggagctggtacggccggatcacctgcggagcgagctgtgggtgc
93	Ácido nucleico de SEQ ID NO: 87	gacatctcgaccccaacccctgcgagaacggcggtcatctgcctgcccgccctggccgacggcagcttcagct gcgagtccccgacggctcaccgaccccaactgcagcagcgtggtggaggtggccagcagcagggaggag cccaccagcggcgccccctgcaccccaacccctgccacaacggcgccacctgcgagatcagcagggccta ccggggcgacacctcatcgctacgtgtgcaagtgcggcggggttcaacggcatccactgccagcagggca gagcagcccacaagagcgaggtggccaccgggtcaaggacctggcgaggagaactcaaggccctggtg ctgatcgccctcgccagtagctgcagcagagcccttcgaggaccacgtgaagctggtgaacgaggtgaccga gttcgccaagacctgcgtggccgacgagagcgccgagaactgcgacaagagcctgcacacctgttcggcga caagctgtgcacctggccaccctgcgggagacctacggcgagatggccgactgctgcgccaagcagggagcc cgagcggaaacgagtgcttctgcagcacaaggacgacaaccccaacctgccccggctggtgcggcccgaggt ggacgtgatgtgacccgcttcacgacaacgaggagaccttcctgaagaagtacctgtacgagatcgcccggc ggcaccctacttctacgccccgagctgctgttcttcgccaagcggtacaaggccgcttcaccgagtgctgcca ggccgcccgaagggcgctgctgctgccaagctggacgagctgcgggacgaggggaaggccagcagc gccaagcagcggctgaagtgcgccagcctgcagaagttcggcgagcgggcttcaaggcctgggcccgtggcc cggctgagccagcgggttcccaaggccgagttcgccgaggtgagcaagctggtgaccgacctgaccaaggtgc acaccgagtgctgccacggcgacctgctggagtgccgacgacccggccgacctggccaagtacatctgcg agaaccaggacagcatcagcagcaagctgaaggagtgctgcgagaagccctgctggagaagagccactgc atcgccgaggtggagaacgacgagatgcccgcgacctgcccagcctggccgagcttcgtggagagcaag gacgtgtgcaagaactacgccgagggccaaggacgtgttcctgggcatgtttctgacgagtacgccggcgga ccccgactacagcgtggtgctgctgctgcccgtggccaagacctacgagaccacctggagaagtgtgcgcc gcccggcacccccacgagtgctacgccaaggtgttcgacgagttcaagccctggtggaggagccccagaac ctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagctgggagtagacaagttccagaacgcctgctggtgcggta caccaagaaggtgccccaggtgagcacccccacctggtggaggtgagccggaacctgggcaaggtgggca gcaagtgtgcaagcaccggaggccaagcggatgccctgcgcccaggactacctgagcgtggtgtgaacc agctgtgctgtgcacgagaagacccccgtgagcgacccgggtgaccaagtgtgcaccgagagcctggtga accggcgccctgcttcagcgccctggaggtggacgagacctacgtgcccaaggagttcaacgccgagacctt caccttcacgcccagatctgcacctgagcgagaaggagcggcagatcaagaagcagaccgcccctggtgga gctggtgaagcacaagcccaaggccaccaaggagcagctgaaggccgtgatggacgacttcgccccttcgt ggagaagtgtgcaaggccgacgacaaggagacctgcttcgcccaggaggggaagaagtgtggccgcca gccaggccgcccctgggctgggcgagcggcgccgagcggcgccgagcggcgccgagctgcagcggccccct gggcatcgagggcgccatcatcagcaaccagcagatcaccgccagcagcaccaccgggcccctgttcggcct gcagaagtgtgtagccctactacgcccggctgaacaagaaggccctgatcaacgcctggaccgcccggagaa cgaccggtggccctggatccagatcaacctgcagcgggaagatgcgggtgaccggcgtgatcaccagggcgc caagcggatcggcagccccgagtagcatcaagagctacaagatgcctacagcaacgacggcaagacctggg ccatgtacaaggtgaagggcaccaacgaggacatggtgttcgggggcaacatcgacaacaacacccccctacg ccaacagctcacccccccatcaaggcccagtagctgcggctgtacccccaggtgtccggcgccgactgcacc ctgcggatggagctgtgggtgcgagctgagcgggtgcagcgagccccctgggcatgaagagcggccacatc caggactaccagatcaccgccagcagcatctccggaccctgaacatggacatgttcacctgggagccccgga aggccggctggacaagcagggcaaggtgaacgcctggaccagcggccacaacgaccagagccagtggct gcaggtggacctgtggtgccaccaaggtgaccggcatcatcaccagggcgccaaggacttcggccacgtg cagttcgtgggcagctacaagctggcctacagcaacgacggcgagcactggaccgtgtaccaggacgagaag

		cagcgggaaggacaaggtgttcagggcaactcgacaacgacacccaccggaagaacgtgatcgaccccc catctacgcccggcacatccggatcctgacctggagctggtacggccggatcacctgaggagcgagctgctgg gctgc
94	Ácido nucleico de SEQ ID NO: 88	agcgccggcccctgcaccccaaccctgccacaacggcgccacctgcgagatcagcaggcctaccgggg cgacacctcatcggtacgtgtgcaagtgccccggggcttaacggcatccactgccagcacaacatcaacg agtgcgaggtggagccctgcaagaacggcgccatctgcaccgacctggtggccaaactacagctcgagtgccc cggcgagttcatggccggaactgccagtacaaggcgagcgacgccacaagagcgaggtggccaccgggt tcaaggacctggcgaggagaactcaaggccctggtgctgatcgcttcgccagctacgtgcagcagagcccc ttcaggaccacgtgaagctggtgaacgaggtgaccgagttcgccaagacctgctggccgacgagagcgcc gagaactgcgacaagagcctgcacaccctgttcggcgacaagctgtgcaccgtggccaccctgcgggagacct acggcgagatggccgactgctgcgccaagcaggagcccgagcggaacgagtgcttctgcagcacaaggac gacaaccccaacctgccccggctggtgcggcccgaggtggacgtgatgtgcaccgcttcacgacaacgag gagaccttctgaagaagtacgttacgagatcgccggcgccacccctacttctacgccccgagctgctgttct cgccaagcgggtacaaggccgcttcaccgagtgctgccaggccgcccgaaggccgctgctgctgccaa gctggacgagctgcgggacgagggcaaggccagcagcgaagcagcggtgaagtgcagcagcctgcag aagttcggcgagcgggctcaaggcctgggctggtggccggctgagccagcggttcccaaggccgagttcg ccgaggtgagcaagctggtgaccgacctgaccaaggtgcacaccgagtgctgcacggcgacctgctggagt gcgcccagcagccggccgacctggccaagtacatctgcgagaaccaggacagcatcagcagcaagctgaag gagtgctgcgagaagccctgctggagaagagccactgcacgaggtggagaacgacgagatgcccgc cgacctgcccagcctggccgcccacttcgtggagagcaaggacgtgtgcaagaactacgccgaggccaagga cgtgttctgggcatgttctgtacgagtagcggcgccgaccccgactacagcgtggtgctgctgctgcggctg gccaagacctacgagaccacctggagaagtgtgcgcccggccgacccccacgagtgctacgccaagggtg ttcagcaggttaagccctggtggaggagccccagaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagct gggagagtagaagttccagaacgcccctgctggtgctggttacccaagaagggtccccaggtgagcacccccac cctggtggaggtgagccggaacctgggcaagggtggcgagcaagtgtgcaagcaccggaggccaagcgga tgccctgcgcccagactacctgagcgtggtgctgaaccagctgtgctgctgcagcagaagacccccgtgagc gaccgggtgaccaagtgtgcaccgagagcctggtgaaccggcgccctgcttcagcgccctggaggtggagc agacctacgtgccaaggagttcaacgcccagaccttcacctccacgcccagacatctgcacctgagcgagaa ggagcggcagatcaagaagcagaccgcccgtggtgagctggtgaagcacaagccaaggccaccaaggag cagctgaaggccgtgatggacgacttcgcccgttcgtggagaagtgtcgaaggccgacgacaaggagagact gcttcgcccaggagggaagaagctggtggccgagccagccgcccctgggctggcgccgagcggcgccg agcgccgagcagcgccgagctgcagcgccccctgggcatcagaggcgccatcatcagcaaccagcagat caccgccagcagcaccacccggccctgttcggcctgcagaagtgttacctactacgcccggctgaacaag aaggccctgatcaacgctggaccgcccggcgaagcagccggtggccctggatccagatcaacctgcagcgg aagatgcgggtgaccggcgtgatcaccaggcgccgaagcggatcggcagccccgagtagcatcaagagcta caagatcgccctacagcaacgacggcaagacctgggcatgtacaaggtaaggccaccaacgaggacatgg tgttcgggggaacatcgacaacaacacccctacgccaacagcttcaccccccatcaaggcccagtagct gcggctgtacccccaggtgtgcccggcgccactgcacctgcggatggagctgctgggtgcgagctgagcggct gcagcgagcccctggcatgaagagcgccacatccaggactaccagatcaccgcccagcagcatctccgga ccctgaacatggacatgttcacctgggagccccggaaggcccggtggacaagcaggggaaggtgaacgct ggaccagcggccacaacgaccagagccagtggtgcaggtggacctgctggtgccaccaaggtgaccggc atcatcaccaggcgccaaggacttcggccacgtgcagttcgtgggagctacaagctggcctacagcaacg acggcgagcactggaccgtgtaccaggacgagaagcagcggaaggacaaggtgttcaggggcaacttcgac aacgacacccaccggaagaacgtgatcgaccccccatctacgcccggcacatccggatcctgacctggagct ggtacggccggatcacctgcggagcagctgctgggctgc
95	Ácido nucleico de SEQ ID NO: 89	gacatctgcgaccccaacccctgcgagaacggcgccatctgcctgcccgccctggccgagcgagcttcagct gcgagtgccccgacggcttcaccgaccccaactgcagcagcgtggtggaggtggccagcagcagggaggag cccaccaacatcaacgagtgcgaggtggagccctgcaagaacggcgccatctgcaccgacctggtggccaac tacagctgcgagtgccccggcgagttcatggccggaactgccagtacaaggcgagcagcggccacaagagc gaggtggcccaccggttaaggacctggcgaggagaactcaaggccctggtgctgatcgcttcgcccagta cctgcagcagagccccttcgaggaccacgtgaagctggtgaacgaggtgaccgagttcgccaagacctgcgtg gccgacgagagcgccgagaactgcgacaagacgtgcacacctgttcggcgacaagctgtgcaccgtggcc accctgcgggagacctacggcgagatggccgactgctgcgccaagcaggagcccagcgggaacgagtgcttc

		ctgcagcacaaggacgacaaccccaacctgccccggctggtgcggcccgaggtggacgtgatgtgcaccgcc ttccacgacaacgaggagaccttctgaagaagtacctgtacgagatcgcccgccggcaccctacttctacgc ccccgagctgctgttctcgccaagcgggtacaaggccgcttcaccgagtgctgccaggccgccaaggccg cctgcctgctgccaagctggacgagctgcgggacgagggcaaggccagcagcgccaagcagcggtgaag tgcgccagcctgcagaagttcgccgagcgggccttaaggcctgggcccgtgagccagcggttcc ccaaggccgagttcgccgaggtgagcaagctggtgaccgacctgaccaaggtgcacaccgagtgctgccacg gcgacctgctggagtgccggacgacgggcccagctggccaagtacatctgcgagaaccaggacagcatca gcagcaagctgaaggagtgctgcgagaagccccctgctggagaagagccactgcacgaggtggagaac gacgagatgcccgccgacctgcccagcctggccgcccacttctgaggagcaaggacgtgtgaagaactac gccgaggccaaggacgtgttctgggcatgttctgtacgagtagcggcgccgacccccgactacagcggtgt gctgtgctgcggctggccaagacctacgagaccacctggagaagtgtgcggccgcccgaacccccacga gtgctacccaaggtgttcgacgagttcaagcccctggtggaggagccccagaacctgatcaagcagaactgc gagctgttcgagcagctggcgagtagcaagttccagaacgcctgtggtgcggtacaccaagaaggtgcccc aggtgagcacccccacctggtggaggtgagccgaacctgggaaggtgggcagcaagtgctgaagcac cccaggccaagcgatgccctgcggcaggactacctgagcgtggtgtgaaccagctgtgctgtgcacg agaagacccccgtgagcgaccgggtgaccaagtgtgcaccgagagcctggtgaaccggcgccctgttca gcgccctggaggtggacgagacctacgtgccaaggagttcaacgccgagaccttacctccacgcgcgacat ctgcacctgagcgagaaggagcggcagatcaagaagcagaccgcccctggtgagtggtgaagcacaagc ccaaggccaccaaggagcagctgaaggccgtgatggacgacttcgcccctgctggagaagtgtgaagg ccgacgacaaggagacctgcttcgcccagggagggcaagaagctggtggccgcccagccaggccgcccctgggc ctggggggcagcgggcgagcgggcgagcgggcgagctgcagcgggccccctgggcatcgaggcgggca tcatcagcaaccagcagatcacccgagcagcaccaccgggcccctgttcggcctgcagaagtgtgacctta ctacggccgctgaacaagaaggccctgatcaacgcctggaccgcccgcgagaacgaccggtggccctggat ccagatcaacctgcagcgggaagatgcgggtgaccggcgatcacccagggcgccaagcggtatggcagcc ccgagtacatcaagagctacaagatgcctacgacaacgacggcaagacctgggcatgtacaaggtgaagg gcaccaacgaggacatggtgttcggggcaacatcgacaacaacacccccctacgccaacagcttacccccc ccatcaaggcccagtagctgcggctgtacccccaggtgtgcggcgccgactgcacctgcggtatggagctgtg ggctgcgagctgagcggctgcagcgagcccctgggcatgaagagcgccacatccaggactaccagatcac gccagcagcatctccggacctgaacatggacatgtcacctgggagccccggaaggccggctggacaagc agggcaaggtgaacgcctggaccagcgccacaacgaccagagccagtggtgcaggtggacctgctggtg cccaccaaggtgaccggcatcatcacccagggcgccaaggacttcggccacgtgcagttcgtgggcagctaca agctggcctacagcaacgacggcgagcactggaccgtgtaccaggacgagaagcagcggaaggacaaggt gttcaggggcaacttcgacaacgacacccaccggaagaacgtgatgaccccccatctacggccgacatc cggatcctgcccctggagctgttacggccggtacacctgcggagcgagctgtgggctgc
14	FP060 EGF–C1–C2–Fc [S354C, T366W]	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVGRDVFPSYCTCTCLKGYAGNHCETKCVEPLGME NGNIANSQIAASSVRVTFGLQLHWPELARLN RAGMVNAWTPSSNDDNPWIQV NLLRRMWVTGVVTQGASRLASHEYLKAFKVAYSLNGHEFDIHDVNKKHKEFVG NWNKNAVHVNLFETPVEAQYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCELNGCANPLGLKN NSIPDKQITASSSYKTWGLHLFSWNPSYARLDKQGNFNWVAGSYGNDQWLQV DLGSSKEVTGIITQGARNFGSVQFVASYKVAYSND SANWTEYQDPRTGSSKIFP GNWDNHSKKLNFETPILARYVRILPVAWHNRIALRELLGCGGGGTDKHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
15	FP060 Ácido nucleico	ctggacatctgcagcaagaacccctgccacaacggcgccctgtgcgaagagatcagccaggaagtgcgggg cgacgtgttcccagctacacctgtacctgctgaagggctacgcccgaaccactgcgagactaagtgcgtgg aaccctgggcatgaaaacggcaatttgccaacagccagatcgccgacgctccgtgcgctgaccttctg ggactgcagcactgggtgcccagctggccagactgaacagagccggcatggtgaacgcctggacccccagc agcaacgacgacaacccctggatccaggtgaacctgtgcggcgatgtgggtgacagggcgtggtgacacagg gcgccagcagactggccagccagtagctgaaggccttaagggtggcctacagcctgaacggccacgagtt cgacttcatccacgacgtgaacaagaacacaaagaatttggggcaactggaacaagaacgccgtgcacgtg

		tgcccggtggcctggcacaacagaattgccctgagactggaactgctcggctgtggctctcaccaccaccatcaccat
18	FP071 EGF– Fc(botón)–C1– C2	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVRGDVFPSYTCTCLKGYAGNHCETKGSCKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGKGGSGGSGGSGGSCVEPLGMENGNIANSQIAASSVRVTFGLQHWVP ELARLNRAGMVNAWTPSSNDDNPWIQVNLRRMWVTGVVTQGASRLASHEYL KAFKVAYSLNGHEFDIFIHDVNKKHKEFVGNWNKNAVHVNLFETPVEAQYVRLYP TSCHTACTLRFELLGCELNGCANPLGLKNNIPDKQITASSSYKTWGLHLFSWNP SYARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQVDLGSSKEVTGIITQGARNFGSVQFVA SYKVAYSNSANWTEYQDPRTGSSKIFPGNWDNHSKKNLFETPILARYVRILPV AWHNRIALRLELLGCGSHHHHHH
19	FP071 Ácido nucleico.	ctggacatctgcagcaagaatccttgccacaacggcgccctgtgcgaagagatttcaagaagtgcggg gcgacgtttcccccagctacacctgtacatgtctgaagggctacgcccgaaccactgcgagacaaaagg atccgacaagaccacacctgccccctgccagccccagagctgtggcgccgaccctccgtgttctgt tccccccaagccaaggacacctgatgatcagcaggacccccgaggtgacctgcgtggtggtggacgt gagccacgaggaccagaggtgaagtcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcacaacgccaaga ccaagcccagagaggagcagtacaacagcacctacaggggtggtgtccgtgtgacctgtgtgcaccagg actggtgaacggcaaggaatacaagtgaaggtctccaacaaggccctgccagccccatcgaaaag accatcagcaaggccaaggccagccacgggagccccaggtgtacacctgccccctgccgggagg agatgaccaagaaccaggtgtccctgtggtgtctggtgaagggcttaccaccagcgacatcgccgtggagt gggagagcaacggccagccccgagaacaactacaagaccacccccagtgctggacagcgacggca gcttcttctgtacagcaagctgacctggacaagtccaggtggcagcagggaacgtgtcagctgcagc gtgatgcagaggccctgcacaaccactacaccagaagagcctgagcctgtcccccggaaggagg aagcggaggatctggcggtccggaggctctgtgtggaaccctcggcatggaacggcaatatcgcc aatagccagattgccgccagcagcgtcagagtacatttctgggactgcagcactgggtgccgagctggc tagactgaatagagccggcatggtcaacgcctggacaccagcagcaacgacgataacccttgattcaa gtgaacctgtgcggcgatgtgggtcacaggtgtgttacacagggcgcccttagactggccagccacgag tatctgaaggccttaaggtggcctacagcctgaacggccacgagttcgacttcaccagacgtgaacaag aagcacaagagttgtcggaactggaacaagaacgccgtgcacgtgaacctgttcgagacacctgtgg aagcccagctacgtcggtgtaccctacaagctgtcacaccgcctgcactctgagattcgaactgtgggat gagagctgaacggctgtgtaacctctgggctgaagaacaacagcatccccgataagcagatcacccg cagctccagctataagacatggggcctgcacgtgtcagctggaacccttctacgccagactggacaagc agggcaacttcaatgctgggtggcgccagctacggcaatgatcagtggtgcaagtggacctgggcag cagcaaagaagtgcagggcatcatcaccagggcgccagaaatttcggcagcgtgcagttgtggccagc tacaagtgccctactccaacgacagcgccaactggaccgagtagcaggacctagaaccggcagctcc aagatctccccggaattgggacaaccacagccacaagaagaatctgttcgaaaccctatcctggcca gatattgtgcgattctgccgtggcctggcacaacagaattgccctgagactggaactgctcggctgtggctc tcaccaccaccatcaccat
20	FP072 EGF–Fc(ojal)– C1–C2	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVRGDVFPSYTCTCLKGYAGNHCETKGSCKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGKGGSGGSGGSGGSCVEPLGMENGNIANSQIAAS SVRVTFGLQHWVPELARLNRAGMVNAWTPSSNDDNPWIQVNLRRMWVT

		GVVTQGASRLASHEYLKAFKVAYSLNGHEFDIHDVNKKHKEFVGNWNKNA VHVNLFETPVEAQYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCELNGCANPLGLKNN SIP DKQITASSSYKTWGLHLFSWNPSYARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQV DLGSSKEVTGIITQGARNFGSVQFVASYKVAYSNDSANWTEYQDPRTGSSKI FPGNWDNHSKKLNFETPILARYVRILPVAWHNRIALRELLGCGSHHHHHH
21	FP072 Ácido nucleico	ctggacatctgcagcaagaatccttgccacaacggcgccctgtgcgaagagatttctcaagaagtgcggg gcgacgttttcccagctacacctgtacatgtctgaagggctacgccggcaaccactgcgagacaaaagg atccgacaagaccacacctgccccctgccagcccagagctgctggcgccgaccctccgtgttctgt tccccccaagccaaggacacccctgatgatcagcaggacccccgaggtgacctgcgtggtggtggacgt gagccacgaggaccagaggtgaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcacaacgccaaga ccaagcccagagaggagcagtacaacagcacctacaggggtgttccgtgctgacctgctgcaccagg actggtgaacggcaaggaatacaagtgaagggtccaacaaggccctgccagcccccatcgaaaag accatcagcaaggccaaggccagccacgggagccccaggtgtgcacctgccccctccgggagg agatgaccaagaaccaggtgtccctgtcctgtgcggtgaagggcttctacccagcgacatcgccgtggag tgggagagcaacggccagcccagagaacaactacaagaccacccccagtgctggacagcgacggca gcttctcctggtcagcaagctgacctggacaagtccaggtggcagcagggaacgtgttcagctgcagc gtgatgcagaggccctgcacaaccactacaccagaagagcctgagcctgtccccggcaagggagg aagcggaggatctggcggtccggaggctctgtgtggaacccctggcatggaacggcaatatcgcc aatagccagattgccgccagcagcgtcagagtacatttctgggactgcagcactgggtgccgagctggc tagactgaatagagccggcatggtcaacgcctggacaccagcagcaacgacgataacccttgattcaa gtgaacctgtgcggcgatgtgggtcacaggtgtgttacacagggcgcccttagactggccagccacgag tatctgaaggcctttaaggtggcctacagcctgaacggccacgagttcgacttcacacgacgtgaacaag aagcacaagagttgtcggaactggaacaagaacgccgtgcacgtgaacctgttcgagacacctgtgg aagcccagctacgtgcggctgtaccctacaagctgtcacaccgcctgcactctgagattcgaactgtggat gcgagctgaacggctgtgtaacctctgggcctgaagaacaacagcatccccgataagcagatcacccg cagctccagctataagacatggggcctgcacctgttcagctggaacccttctacgccagactggacaagc agggcaacttcaatgcttgggtggccggcagctacggcaatgatcagtggtgcaagtggacctgggcag cagcaaagaagtgacaggcatcatcaccagggcgccagaaatttcggcagcgtgcagttgtggccagc tacaagtggcctactccaacgacagcgccaactggaccgagtatcaggacctagaacggcgagctcc aagatctccccggcaattgggacaaccacagccacaagaagaatctgttcgaaaccctatcctggcca gatagtgcgcatctgcccgtggcctggcacaacagaattgccctgagactggaactgctcggtgtggctc tcaccaccacatcacat
22	FP080 EGF-C1-C2-Fc	LDICKNPCHNGGLCEEISQEVGRDVFPSYTCTCLKGYAGNHCEKTCVEPLGME NGNIANSQIAASSVRVTFGLQLHWPELARLN RAGMVNAWTPSSNDDNPWIQV NLLRRMWVTGVVTQGASRLASHEYLKAFKVAYSLNGHEFDIHDVNKKHKEFVG NWNKNVHVNLFETPVEAQYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCELNGCANPLGLKN NSIPDKQITASSSYKTWGLHLFSWNPSYARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQV DLGSSKEVTGIITQGARNFGSVQFVASYKVAYSNDSANWTEYQDPRTGSSKIFP GNWDNHSKKLNFETPILARYVRILPVAWHNRIALRELLGCGGGGTDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
23	FP080 Ácido nucleico	ctggacatctgcagcaagaacccctgccacaacggcgccctgtgcgaagagatcagccaggaagtgcggg cgacgtgttcccagctacacctgtacctgctgaagggctacgccggcaaccactgcgagactaagtgcgtg aaccctgggcatggaacggcaatatcgccaacagccagatcgccggcagctccgtgcgctgaccttctg ggactgcagcactgggtgcccagctggccagactgaacagagccggcatggtgaacgcctggacccccagc

		agcaacgacgacaacccttggatccaggtgaacctgctcgggcggatgtgggtgacaggcgtggtgacacagg gcgccagcagactggccagccacgagtagctgaaggcctttaagggtggcctacagcctgaacggccacgagtt cgacttcatccacgacgtgaacaagaaacacaaagaatttggggcaactggaacaagaacgccgtgcacgtg aacctgttcgagacacccgtggaagcccagtagctgcggtgtacccaccagctgccacaccgctgcaccct gagattcgagctgctgggtgctgagctgaacggctgcgccaacccctgggctgaagaacaacagcatcccc gacaagcagatcacgcctccagcagctacaagacctggggcctgcacctgttcagctggaacccacgtacg cccggctggacaagcagggcaactcaacgcctgggtggccggcagctacggcaacgaccagtggctgcagg tggacctgggcagcagcaagaagtgaacggcatcatcaccaggggggccagaacctcggcagcgtgcagt tcgtggccagctacaaagtggcctactccaacgacagcgccaactggaccgagtagcaggacccccggaccg gcagctccaagatcttccccggcaactgggacaaccacagccacaagaagaatctgttcgaaacccccatcct ggccagatacgtgcggatcctgcccgtggcctggcacaaccggatcgccctgagactggaactgctgggatgtg ggggaggcgttaccgacaagaccacacctgccccctgccagccccagagctgctggggcgaccctcc gtgttctgttcccccaagccaaggacacctgatgatcagcaggacccccgaggtgacctgctggtggtg gacgtgagccacgaggaccagaggtgaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcacaacgcaa gaccaagcccagagaggagcagtagacaacagcacctacaggggtgtgtccgtgctgacctgctgcaccagga ctggctgaacggcaaggaatacaagtgaaggtctccaacaaggccctgccagccccatcgaaaagaccat cagcaaggccaagggccagccacgggagccccaggtgtacacctgccccctcccgaggagatgacca agaaccaggtgtccctgacctgtctggtgaagggcttctacccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaac ggccagccccgagaacaactacaagaccacccccagtgctggacagcgacggcagcttcttctgtacagca agctgacctgggacaagtccaggtggcagcagggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacgaggccctgca caaccactacaccagaagagcctgagcctgtcccccggaag
24	FP090 Fc-EGF-C1-C2	DKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKLSLSLSPGKGSLEVLFGPGSSLDICSKNPCHNGGLCEEISQEVRGDVFPSY TCTCLKGYAGNHCETKCVEPLGMENGNIANSQIAASSVRVTFGLQHWVPELAR LNRAGMVNAWTPSSNDNPWIQVNLRRMWVTGVVTQGASRLASHEYLKAFK VAYSLNGHEFDIHDVNNKKHKEFVGNWNKNAVHVNLFETPVEAQYVRLYPTSCH TACTLRFELLGCELNGCANPLGLKNNSIPDKQITASSSYKTWGLHLFSWNPSYAR LDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQVDLGSSKEVTGIITQGARNFGSVQFVASYKV AYSNDSANWTEYQDPRTGSSKIFPGNWDNHSKKLNFETPILARYVRILPVAWH NRIALRLELLGC
25	FP090 Ácido nucleico	gacaagaccacacctgtccccctgcctgctcctgagctgctgggaggaccagcgtgttctgttcccccca agcccaaggacacctgatgatcagccgacccccgaagtgaacctgctggtggtgacgtgtcccacgagga ccctgaagtgaagtcaattgtacgtggacggcgtggaggtgcacaacgccaagaccaagccccgggagga acagtacaacgacacctaccgggtggtgtccgtgctgacctgctgcaccaggactggctgaacggcaaagaa tacaagtgaaggtgtccaacaaggccctgcctgccccatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggccag ccagagaacccaggtgtacacactcccaccaagccgggaggaaatgaccaagaaccaggtgtcctgtac ctgctgtgtgaagggtcttacctcagcgacattgcctgtgagtgaggagagcaacggccagcctgagaacaac tacaagaccacccctcagtcctcgattctgatggatcttcttctgtactccaagctgacctgtgacaagagccg gtggcagcagggaaacgtcttctgttccgtcatgcatgaggctctccacaatcactacaccagaagtccctga gctgagccccggcaagggatccctcgaggtgctgtttcagggaccaggcagcagcctggacatctgcagcaa gaaccctgccacaacggcggtgtgcgaagagatcagccaggaaagtgcggggcgacgtgttccccagcta cacctgtacctgctgaagggctacgcccgaaccactgcgagactaagtgcgtggaaccctgggaatggaa aacggcaatatcgccaacagccagatcgccgccagctccgtcagagtgacctttctgggactccagcactgggt gcccagctggccagactgaatagagccggcatggtcaacgcctggacccccagcagcaacgacgacaacc cctgattcaagtgaacctgctgcggcgtatgtgggtaccggcgtcgtgacacagggcgctagcagactggcc agccacgagtagctgaaggcctttaagggtggcctacagcctgaacggccacgagttcagcttcatccacgacgtg aacaagaacacaaagaatttggggcaactggaacaagaacgccgtgcacgtgaacctgttcgagacacc

		gtggaagcccagtagctgctggctgtaccctaccagctgtcacaccgctgcacctaagattcgagctgctgggct gcgagctgaacggctgcgctaactcttggcctgaagaacaacagcatccccgacaagcagatcaccgcctc cagcagctacaagacctggggactgcacctgttcagctggaaccctagctacgcccggctggacaagcagggc aactcaatgcttgggtggccggcagctacggcaacgaccagtggtccaggtggacctgggcagcagcaaag aagtgaccggcatcatcaccagggggccagaaacttcggcagcgtgcagttcgtggcctctacaaagtggcc tactccaacgacagcgccaactggaccgagtaccaggaccctagaaccggcagctccaagatttccccggca actgggataaccacagccacaagaagaatctgttcgaaacccccatcctggcccgtacgtgctgcattctaccg gtcgctggcacaaccggatcgccctgagactggaactgctgggatgc
26	FP100 EGF-C2-C2	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVGRDVFPSYTCTCLKGYAGNHCETKGCANP LGLKNNSIPDKQITASSSYKTWGLHLFSWNPSYARLDKQGNFNAWVAGSYG NDQWLQVDLGSSEKVTGIITQGARNFGSVQFVASYSNDSANWTEYQD PRTGSSKIFPGNWDNHSKKNLFETPILARYVRILPVAWHNRALRLELLGCG CANPLGLKNNSIPDKQITASSSYKTWGLHLFSWNPSYARLDKQGNFNAWVA GSYGNDQWLQVDLGSSEKVTGIITQGARNFGSVQFVASYSNDSANW TEYQDPRTGSSKIFPGNWDNHSKKNLFETPILARYVRILPVAWHNRALRLE LLGC
27	FP100 Ácido nucleico	ctggacatctgcagcaagaaccctgccacaacggcggtctgcaagagatcagccaggaagtgcg gggagctgttccccagctacacctgtacctgctgaagggtacgcccggcaaccactgcgagacaaag ggctgcgccaaccctgggctgaagaacaacagcatccccgacaagcagatcaccgccagcagca gctacaagacctggggcctgcacctgttcagctggaacccagctacgcccggctggacaagcagggca acttcaacgcctgggtggccggcagctacggcaacgaccagtggtgcaggtggacctgggcagcagca aagaagtgaccggcatcatcaccagggcgccagaaacttcggcagcgtgcagttcgtggccagctaca aggtggcctacagcaacgacagcgccaactggaccgagtaccaggacccccggaccggcagctccaa gatcttccccggcaactgggacaaccacagccacaagaagaactgttcgagacacccatcctggccag atacgtgctggtcctgcccgtggcctggcacaaccggatcgccctgagactggaactgctgggctgcggct gtgccaatcctctgggactgaaaacaattccatccctgataagcagattacagctccagctcctataaga catgggggctgcatctgtttcttgaacccctcctacgctagactggataagcagggaaattcaatgctgg gtggccgggtcctatggaaatgatcagtggtgcaggtggacctgggacccctccaaagaagtgcagggat tattacacagggggtcggaaacttggctctgtgcagttgtggcttctacaaagtggcttactccaacgattcc gccaattggacagaatatcaggatccagaaccgggtccagcaagatcttctggaaattgggataatca ctccacaagaaaaatctgttgaaacccctattctggctcgctatgtgctgcattctgcctgtggcttggcataat agaatcgctctgctggctggaactgctgggatgc
28	FP110 EGF-C1-C2- HSA	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVGRDVFPSYTCTCLKGYAGNHCETKCV EPLGME NGNIANSQIAASSVRVTFGLQHWPELARLN RAGMVNAWTPSSNDDNPWIQV NLLRRMWVTGVVTQGASRLASHEYLKAFKVAYSLNGHEFDIHDVNKKHKEFVG NWNKNAVHVNLFETPVEAQYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCELNGCANPLGLKN NSIPDKQITASSSYKTWGLHLFSWNPSYARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQV DLGSSSEKVTGIITQGARNFGSVQFVASYSNDSANWTEYQDPRTGSSKIFP GNWDNHSKKNLFETPILARYVRILPVAWHNRALRLELLGCGSGSGSGSGSGS DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHV KLVNEVTEFAKTCVA DESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCA KQEPERNECFLQHKDD NPNLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKA AFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFAKAWAVA RLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADD RADLAKYICENQDSIS SKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFL GMFLY EYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFEDEFKPLVE EPQNLIKQNC ELFELGEYKFQ NALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSK CCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSA LEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKA

		VMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLHHHHHH
29	FP110 Ácido nucleico	ctggacatctgcagcaagaacccctgccacaacggcggtgtgcgaagagatcagccaggaagtgcgggg cgacgtgttccccagctacacctgtacctgcctgaagggctacgcggcaaccactgcgagactaagtgcgtgg aaccctgggcatggaaaacggcaatatcgccaacagccagatcgccgacgtccgtgcgcgtgacctttctg ggactgcagcactgggtgccgagctggccagactgaacagagccggcatggtgaacgcctggacccccagc agcaacgacgacaacccctggatccaggtgaacctgctgcggcggtgtgggtgacaggcgtggtgacacagg gcgccagcagactggccagccacgagtagctgaaggccttaagggtggcctacagcctgaacggccacgagt cgactcatccacgacgtgaacaagaaacacaaagaatttggggcaactggaacaagaacgcctgcacgtg aacctgttcgagacacccgtggaagccagtagctgcggctgtacctaccagctgccacaccgcctgcacct gagattcgagctgctgggtgcgagctgaacggctgcgccaacccctgggcctgaagaacaacagcatcccc gacaagcagatcacgcctccagcagctacaagacctggggcctgcacctgttcagctggaaccccagctacg cccggtggacaagcagggcaactcaacgcctgggtggccggcagctacggcaacgaccagtggtgcagg tggacctgggcagcagcaaagaagtgaccggcatcatcaccagggggccagaaactcggcagcgtgcagt tcgtggccagctacaaagtggcctactccaacgacagcgccaactggaccgagtaccaggacccccggaccg gcagctcaagatctccccggcaactgggacaaccacagccacaagaagaatctgttcgaacccccatcct ggccagatacgtgcggtacctgcccgtggcctggcacaaccggatcgccctgagactggaactgtgggagt gaggaagcggaggtctggcggtccggaggtctgacgcccacaagagcgaggtggccaccggttaagg acctgggcgaggaactcaaggccctggtgtgatcgcttcgccagtagctgcagcagagccccctcgaa gatcacgtaaagttagtcaacgaggttacggaattcgaaagacatgcgtgtgacgaatccgctgagaattgtg acaagagttgcacactttatcggagataagttgtgtactgtactttgagagagactacggtgaaattggtg actgctgtgcaaacaggaaccagaacgtaacgaatttcttcagcataaggatgataaccctaaccctccaa ggctgttaggccagaagtgcagctgagtgcaccgccttcatgataatgaagagacttttctaaaaagtagctat acgagattcaaggcgtacatcatattttacgcccagagctgtgttttcgcaaagagatacaaagctgcattac tgagtgttccaagctgccgacaaggccgctgtttgtacctaaagtggacgaattgagagacgagggtaaggc atcatctgccaagcagagattaaatgtgcatcttgcaaaaattggagagagagcttttaaggcatgggctgtg cccgactaagccaagattccaaaagccgaattgtgtaagtatcaagctgggtgactgatttgactaaagtaca tacagaattgtccatggcgacctttagaatgtgctgatgacagagcagatttgctaagtatatctgcgaaaatca agattcaatcagctctaagctgaaggaatgtgagaaaccactgtgaaaaatcgattgtattgtgaagttg aaaatgatgagatgcctgctgactgcctctctgcccgtgattttgtgagtcgaaggatgtctgaagaattatgctg aagctaaagacgtttctgggtatgttcttatatgagtacgaagacgtcaccagattactgtggttctgactg agattggctaaaacatacagagacaacgcgtggagaagtgtgtgctgcccgtgaccctcatgagtgtatgcaaa ggttttgatgaattcaaaccattggtgaagagcctcaaaacttgataaagcagaactgtgagctgtttgagcaatt gggtgagtataagttcaaaatgccctgttggtgagatatacaaaaaaggtagcccaagttcaacgccacttta gttgaagtgtccagaaatctggtaagtgggtagcaaatgttgaagcatccagaagccaagcgaatgccctgt gctgaggattatctgtccgtggtgaaccaattgtgcgtattacagaaaaaacccagctctgatagagtcacc aaatgttgactgagtcactagttatagaaggcctgttttccgcttggaagttgatgaacctacgtgcctaagg aatttaacgctgagacctttaccttcacgctgacattgtactttgagtgaagagagcgtcaaatcaaaaagcaa accgctctgttgattggtgaacacaagcctaaggctacgaaggagcagctaaagccgcatggacgatttc gccgattttgaaaaatgctgtaaagctgatgacaaggaaacatgttcgctgaagagggaaagaaattggtg cggccagtcaggccgacttggttgaccatcatcaccatcac
30	FP220 HSA-EGF-C1- C2	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLNVNEVEFAKTCVA DESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDD NPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKA AFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVA RLSQRFPKAEFAEVSKLVDTLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSIS SKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFL GMFLYEYARRHPDYSVLLLR LAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVE EPQNLIKQNCLEFQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSK CKKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSA LEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKA

		VMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAGSGSGSGSGSLDICK NPCHNGGLCEEISQEVGRDVFPSYCTCLKGYAGNHCETKCVEPLGMENG NSQIAASSVRVTFGLQHWVPELARLNAGMVNAWTPSSNDDNPWIQVNL MWVTGVVTQGASRLASHEYLKAFKVAYSLNGHEFDHVNKKHKEFVGNW NAVHVNLFETPVEAQYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCELNGCANPLGLK NNSIPDKQITASSSYKTWGLHLFSWNPSYARLDKQGNFNAWVAGSYGN DQWLQVDLGSKEVTGIITQGARNFGSVQFVASYKVAYSNDSANWTEYQ DPRGTSSKIFPGNWDNHSHKKNLFETPILARYVRILPVAWHNRIALRL LELLGCGSHHHHHH
31	FP220 Ácido nucleico	gacgccacaaagagcgaggtggccaccggtcaaggacctggcgaggaaaact caaggccctggtgctgctgacgctgacgagagccctcgaagatcacgtaa gtagtcaacgaggttacggaattcgcgaagacatgctgacgaatccgctg agaattgtgacaagagttgacactttattcggagataagttgtgactgtac tctttagagagagacttacggtgaaatggctgactgctgtgcaaaacagg aaccagaacgtaacgaatgttctcagcataaggaatgataaccctaacctt caaggctgttagggcagaagtcgacgtgatgtgcaccgcttccatgataat gaagagacttttctaaaaagctatacagagattgcaaggcgatccatttt acgcccagagctgtgtttcgcgaagagatacaaaagctgcattactgagt gttgccaagctgccgacaaggccgtgttgctaccaaagttggacgaattg agagacgagggtaaggcatcatctgccaagcagagattaaaatgtcatctt gcaaaaatttgagagagagcttttaaggcatgggtgttggccgactaagg ccaaagattcccaaaagccgaattgctgaagtatccaagctggtagctga tattgactaaagtacatacagaatgttgccatggcgaccttttagaatgt gctgatgacagagcagatttggctaagtatatctgcgaaaatcaagattca atcagctctaagctgaaggaaatgttgcgagaaaccactgttagaaaaat cgcattgtattgctgaagttgaaaatgatgagatgcctgctgacttgctt ctctgcgctgattttgtgagtcgaaggatgtctgtaagaattatgtgaag ctaagacgttttctggtctgactgagattggctaaaacatacagacaacg ctggagaagtgtgtgctgccgtgaccctcatgagtgtatgcaaaggtttt gatgaattcaaaccattggtgaagagcctcaaaactgataaagcagaactg tgagctgtttgagcaattgggtgagtataagttccaaaatgccctgttggt gagatatacaaaaaaggtaccccaagttcaacgccactttagtgaagtgt ccagaaatcttgtaaagtgggtagc aaatgttgaagcatccagaagcca agcgaatgccctgtgctgaggattatcttccgtcgtgttgaaaccaattg tgcgtattacagaaaaaaccagctctctgatagagtcaccaaatgttgca ctgactagtaataagaaggcctgttttccgctttggaagttgatgaaacct acgtgcctaaggaatttaacgtgagacctttaccttcacgctgacattgt tactttgagtgaaaaagagcgtcaaatcaaaaagcaaaccgctctgttg aattggtgaaacacaagcctaaggctacgaaggagcagcttaaagccgtc atggagacgatttcgcccattgttgaaaaatgtgtaaagctgatgacaa ggaaacatgttctgctaagagggaaagaaattggtgcccagtcaggccg gaggaagcggaggtctctagacatctgcagcaagaaccctgccacaacg ggcctgtgcaagagatcagcaggaagtgcggggcgacgtgttccccagc tacacctgacctgacctgaagggtacgcccgaaccactgcgagactaagt gcgtggaacccctgggcatggaaaacggcaatatcgccaacagccagat cgccgacgtccgtgacgttctgggactgcagcactgggtgccgagctgga acagagccggcatgggtgaacgcctgtgctgagggtgacagcgtgtgac acagggccagcagactggccagccagagtacctgaaggccttaagggtg cctacagcctgaacggccacgagttcgacttcatccacgacgtgaacaag aaacacaaagaatttgggcaactggaacaa gaacgcgtgcacgtgaacct gttcgagacaccggtggaagcccagtagctgcggctgtaccccaccagc tgcacaccgcctgcaccctgagattcgagctgctgggctgcgagctgaac ggctgcgccaacccctgggctgaa gaacaacagcatccccgacaagcag atcaccgctccagcagctacaagacctggggcctgcacctgttcagctg gaacccagctacgcccggctggacaagcagggcaacttaacgcctgggt ggcggcagctacggcaacgaccagtggtgcaggtggacctgggacagcaa agaagtgaccggcatcatcaccagggggccagaaattcggcagcgtgcag ttcgtggccagctacaaaagtggtcctactccaacgacagcgcaactgg accgagtagcaggaccccgagctccaagatcttccccggcaactgggaca accacagccacaagaagaatctgtcgaaaccccatcctggccagatacgt gcggatctgcccgtggcctggcacaacgggatcgccctgagactggaact gctgggatgtggctctcaccaccaccatcaccat
32	FP250 EGF-HSA	LDICKSNPCHNGGLCEEISQEVGRDVFPSYCTCLKGYAGNHCETKGS DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTE FAKTCVADESAENCDSLHFLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEP ERNECFLQHK

		DDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFA KRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKASLQKFGER AFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADL AKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESK DVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAAD PHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC ELFELGEYKFQNALLVRYTKKVPQ VSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTP VSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKE RQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEG KKLVAASQAALGLGSHHHHHH
33	FP250 Ácido nucleico	ctggacatctgcagcaagaatccttgccacaacggcggcctgtgcgaagagatttctaagaagtgcggg gcgacgtttccccagctacacctgtacatgtctgaagggctacgcgggaaccactgcgagacaaaagg atccgatgtcacaagagcgaggtggccacagattcaaggatctggcggaagagaactcaaggccct gggtctgatcgcttcgctcagtatctccagcagagcccttcgaggaccacgtgaagctggtaacgaagt gaccgagttcgccaagacctgtgtggccgatgagagcgccgagaactgtgataagagcctgcacaccctg ttcggcgacaagctgtgtacagtggccacactgagagaaacctacggcgagatggccgactgtgtgcc agcaagagcccagagagaaacgagtgcttctgcagcacaaggacgacaaccccaacctgcctagactc gtgcgacccgaagtggatgtgatgtgcaccgcttccagcacaacgaggaaaccttctgaagaagtacct gtacgagatcgccagacggcaccctactttatgccctgagctgtgttcttcgccaagcgggtataaggcc gccttcaccgaatgttgccaggccgctgataaggctgcctgtctgtgcctaagctggacgagctgagagat gagggcaaagccagctctgccaagcagagactgaagtgcgccagcctgcagaagtgcggcgagagag ctttaaggcctgggcccgttgccagactgagccagagatttctaaggccgagttgcccaggtgtccaagct cgtgaccgatctgacaaaggtgcacaccgagtgctgtcacggcgatctgtggaatgtgccgacgataga gccgacctggccaagtacatctgcgagaaccaggacagcatcagcagcaagctgaaagagtgtgcga gaagcccctgttgaaaagtctcactgtatcgccgaggtggaaaacgacgagatgcctgcgcatctgccta gcctggctgccgatttctggaagcaaggacgtgtgcaagaactacgccgaggccaaggatgtgttctg ggcatgttctgtatgagtacgcccgagacaccccgactattctgtggttctgtctgtcggctggccaaaac ctacgagacaaccttgaaaaatgtctgcggcgtgcgcatcctcacgagtgttatgccaagggtgttcgacg agttcaagcctctggtggaagaaccccagaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagctggg cgagtacaagttccagaatgccctgtctgtcggttacaccaagaaagtgcctcaggtgtccacacctacac tggttgaggtgtcccgaatctgggcaaagtgggcagcaagtgttgcaagcaccctgaggccaagagaat gccttgccgaggattacctgagcgtggtgtgaatcagctgtgcgtgtgcacgagaaaacccctgtgtc cgacagagtgaaccaagtgtgtaccgagagcctctgaacagaaggccttgcttagcgccctggaagtg gacgagacatacgtgccc aaagagttcaacgccgagacattcaccttcacgccgacatctgtaccctgag cgagaaagagcggcagatcaagaagcagacagccctggtcgagctggttaagcacaagcccaaggcc accaaagaacagctgaaggccgtgatggacgacttcgccccttctgcgagaagtgtgcaaggccgacg acaaagagacatgcttcgccgaagagggcaagaaactggtggctgcctctcaggctgtctcggacttggc tctcaccaccaccatcaccat
34	FP260 EGF-HSA-C1	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEV RGDVFPSTCTCLKGYAGNH CETKGS DAH KSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHV KLVNEVTEFAKTCVA DESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCA KQEPERNECFLQHK DDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFA KRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKASLQKFGER AFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADL AKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESK DVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAAD PHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC ELFELGEYKFQNALLVRYTKKVPQ

		VSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTP VSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKE RQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEG KKLVAASQAALGLGGSGGSGGSGGSCVEPLGMENGNANSQIAASSVRVTF LGLQHWVPELARLNRAGMVNAWTPSSNDDNPWIQVNLRRMWVTGVVTQ GASRLASHEYLKAFKVAYSLNGHEFDIHDVNKKHKEFVGNWNKNAVHVN FETPVEAQYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCGSHHHHHH
35	FP260 Ácido nucleico	ctggacatctgcagcaagaatccttgccacaacggcgccctgtgcgaagagatttcaagaagtgcggg gcgacgttttcccagctacacctgtacatgtctgaagggctacgcccgaaccactgcgagacaaaagg atccgatgtcacaagagcgaggtggccacagattcaaggatctggcggaagagaactcaaggccct gggtctgatcgcttcgctcagtatctccagcagagcccttcgaggaccacgtgaagctggtaacgaagt gaccgagttcgcaagacctgtgtggccgatgagagcgcgagaactgtgataagagcctgcacacccgt ttcggcgacaagctgtgtacagtggccacactgagagaaacctacggcgagatggccgactgtgtgcca agcaagagcccagagagaaacgagtgcttctgcagcacaaggacgacaaccccaacctgcctagactc gtgcgacccgaagtggatgtgatgtgcaccgcttcacgacaacgaggaaaccttctgaagaagtacct gtacgagatcgccagacggcaccctactttatgcccctgagctgctgttcttccgaagcggataaggcc gccttcaccgaatgttgccaggccgctgataaggctgcctgtctgtgcctaagctggacgagctgagagat gagggcaaagccagctctgccaagcagagactgaagtgcgccagcctgcagaagttcggcgagagag ctttaaggcctgggcccgttgccagactgagccagagatttctaaggccgagtttgcgaggtgtccaagt cgtgaccgatctgacaaaggtgcacaccgagtgctgtcacggcgatctgctggaatgtgccgacgataga gccgacctggccaagtacatctgcgagaaccaggacagcatcagcagcaagctgaaagagtgtctgca gaagcccctgtctgaaaagtctcactgtatcgccgaggtggaaaacgacgagatgcctgccgatctgccta gcctggctgccgattctgtgaaagcaaggacgtgtgcaagaactacgccgaggccaaggtgtgttctg ggcatgttctgtatgagtacgcccgacaccccgactattctgtggttctgctgtgcggctggccaaaac ctacgagacaacctggaaaaatgctgcgccgtgcgatcctcacgagtgttatgccaagggtgttcgacg agttcaagcctctggtggaagaacccagaaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagctggg cgagtacaagttccagaatgccctgtctgtgcggtacaccaagaaagtgcctcaggtgtccacacctacac tggttgaggtgtcccgaatctgggcaaagtgggcagcaagtgttgcaagcaccctgaggccaagagaat gcctgcgccgaggattacctgagcgtggtgtgaatcagctgtgcgtgtgcacgagaaaacccctgtgtc cgacagagtgaacaaagtgtgtaccgagagcctctgaacagaaggccttgccttagcgccctggaagtg gacgagacatacgtgcccaaagagttcaacgccgagacattcaccttcacgcgcgacatctgtacctgag cgagaaagagcggcagatcaagaagcagacagccctggctgagctggttaagcacaagcccgaaggcc accaaagaacagctgaaggccgtgatggacgacttcgcccgttctgcgagaagtgtgcaaggccgacg acaaagagacatgcttcgccgaagagggcaagaaactgggtgctgcctctcaggtgtctcggacttg aggaagcggaggatctggcgttcggaggctctgtgtggaacccctcgcatggaaaacggcaatatc gccaatagccagattgccgccagcagcgtcagagtgacatttctgggactgcagcactgggtgccgagct ggctagactgaatagagccggcatggtcaacgcctggacaccagcagcaacgacgataaaccttggtg caagtgaacctgtgcggcgtatgtgggtcacaggtgtgttacacagggcgctctagactggccagccac gagtatctgaaggccttaaggtggcctacagcctgaacggccacgagttcgactcatccacgacgtgaac aagaagcacaagagtttgcggcaactggaacaagaacgccgtgcacgtgaacctgttcgagacacct gtggaagcccagtacgtgcggctgtaccctacaagctgtcacaccgctgcactctgagattcgaactgtg ggatgcggctctcaccaccaccatcaccat
36	FP270 EGF-HSA-C2	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVVRGDVFPSTCTCLKGYAGNHCETKGS DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLNEVTEFAKTCVA DESAENCDSKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHK DDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFA KRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKCASLQKFGER

		AFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADL AKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESK DVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAAD PHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQ VSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTP VSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKE RQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEG KKLVAASQAALGLGGSGGSGGSGGSCANPLGLKNNSIPDKQITASSSYKTW GLHLFSWNPSYARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQVDLGSSKEVTGIITQ GARNFGSVQFVASYKVAYSNDSANWTEYQDPRTGSSKIFPGNWDNHSHKK NLFETPILARYVRILPVAWHNRIRLLELLGCGSHHHHHH
37	FP270 Ácido nucleico	ctggacatctgcagcaagaatcctgccacaacggcgccctgtgcgaagagatttctcaagaagtgcggg gcgacgttttcccagctacacctgtacatgtctgaagggctacgcgggaaccactgcgagacaaaagg atccgacgcccacaagagcgaggtggccaccgggtcaaggacctggcgaggaaaactcaaggccc tggtgctgatcgcttcgcccagctacgtgcagagagccctcgaagatcacgtaaagtagtcaacgagg ttacggaattcgaaagacatgcgttgctgacgaatccgctgagaattgtgacaagagttgcacactttatc ggagataagttgtgtactgtactttgagagagacttacgggtgaatggctgactgtctgcaaaacagg aaccagaacgtaacgaatgttccctcagcataaggatgataaccctaaccctccaaggctgttaggccag aagtcgacgtgatgtgcaccgcttccatgataatgaagagacttttctaaaaagtagctatacagagattgca aggcgtcatccatattttacgcccagagctgtgttttcgaaagagatacaaagctgcatttactgagtggt gccaaagctgccgacaaggccgctgtgttgctaccaaagttggacgaattgagagacgagggttaaggcatc atctgccaagcagagattaaaatgtgcatcttgcaaaaattggagagagagctttaaggcatgggctgttg cccactaagccaaagattcccaaaagccgaatttgctgaagtatccaagctgggtgactgattgactaaag tacatacagaatgttgccatggcgaccttttagaatgtgctgatgacagagcagattggctaagtatatctgc gaaaatcaagattcaatcagctctaagctgaaggaatgttgcgagaaaccactgttagaaaaatcgattgt attgtgtaagttgaaaatgatgagatgcctgctgacttgccttcttgcgctgattttgtgagtcgaaggatgt ctgtaagaattatgctgaagctaaagacgttttctgggtatgttcttatatgagtacgcaagacgtcaccaga ttactctgtggtctgctactgagattggctaaaacatacagacaacgctggagaagtgtgtgctgccgtg accctcatgagtgtatgcaaaggttttgatgaattcaaaccattggtgaagagcctcaaaactgataaag cagaactgtgagctgttgagcaattgggtgagtataagttccaaaatgccctgttggtgagatatacaaaaa aggtaccccaagttcaacgcccactttagttgaagtgtccagaaaatcttggttaaagtggttagcaaatgttg aagcatccagaagccaagcgaatgccctgtgctgaggattatctgtccgtcgtgtgaaccaattgtgcgtatt acacgaaaaaacccagctctgatagagtcaccaaattgtgactgagtcactagttaatagaaggccttg ttttccgcttggaagttgatgaaacctacgtgcctaaggaatttaacgctgagacctttaccttcacgctgac attgtactttgagtgaagaaagagcgtcaaatcaaaaagcaaaccgctcttgtaattggtgaaacacaag cctaaggctacgaaggagcagcttaaagccgtcatggacgatttcgccgcatgttgtaaaaatgtgtaaa gctgatgacaaggaaacatgttctgctgaagagggaagaaattggttgccgagtcaggccgcacttg gttgagggaagcggaggatctggcggtccggaggctcttgcgccaacccctgggctgaagaacaa cagcatccccgacaagcagatcaccgctccagcagctacaagacctggggcctgcacctgtcagctgg aaccacgctacgcccggctggacaagcagggcaactcaacgctgggtggccggcagctacggcaa cgaccagtggctgcaggtggacctgggcagcagcaaagaagtgaccggcatcatcaccagggggcca gaaacttcggcagcgtgcagttcgtggcagctacaaagtggcctactccaacgacagcgccaactggac cgagtaccaggacccccgaccggcagctccaagatcttccccggcaactgggacaaccacagccaca agaagaatctgttcgaaacccccatcctggccagatacgtgcggatcctgcccggtggcctggcacaaccgg atcgccctgagactggaactgctgggatgtggctctaccaccaccatcaccat
38	FP280 EGF(RGE)–	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEV RGE VFPSYCTCTCLKGYAGNHCE

	HSA-C1-C2	DESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHK DDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFA KRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKCASLQKFGER AFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADL AKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESK DVCKNYAEAKDVFLGMFLYFYARRHPDYSVLLLR LAKTYETTLEKCCAAAD PHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQ VSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTP VSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFN AETFTFHADICTLSEKE RQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEG KKLVAASQAALGLGSGSGSGSGSGSCVEPLGMENGN IANSQIAASSVRVTF LGLQHWVPELARLNRAGMVNAWTPSSNDDNPWIQV NLLRRMWVTGVVTQ GASRLASHEYLKAFKVAYSLNGHEFDIFIHDVNKKHKEFVGNWNKNVHVNL FETPVEAQYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCELNGCAN PLGLKNNSIPDKQITA SSSYKTWGLHLFSWNPSYARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQVDLGSSK EVTGIITQGARNFGSVQFVASYKVAYSNDSANWTEY QDPRTGSSKIFPGNW DNHSHKKNLFETPILARYVRILPVAWHNRIALRLELL GCGSHHHHHH
39	FP280 Ácido nucleico	ctggacatctgcagcaagaatccttgccacaacggcg ggcctgtgcgaagagatttctaagaagtgcggg gcgaggttttcccagctacacctgtacatgtctgaagg gctacgccggcaaccactgcgagacaaaagg atccgatgtcacaagagcgaggtggccacagattcaagg atctggcggaagagaactcaaggccct gggtgctgatcgcttcgctcagtatctccagcagagcc tttcgaggaccacgtgaagctggtaacgaagt gaccgagttcgccaagacctgtgtggcggatgagagcg ccgagaactgtgataagagcctgcacacctgt ttcggcgacaagctgtgtacagtggccacactgagaga aacctacggcgagatggccgactgctgtgcca agcaagagcccagagaaaacgagtgcttctgcagcaca aggacgacaaccccaacctgcctagactc gtgcgacccgaagtggatgtgatgtgcaccgccttca cagacaacgaggaaaccttctgaagaagtacct gtacgagatcgccagacggcaccctacttttatgccc ctgagctgctgttctcgccaagcgggtataaggcc gccttcaccgaatgttgccaggccgctgataaggctgc ctgtctgctgcctaagctggacgagctgagagat gagggcaaagccagctctgccaagcagagactgaagtgc gccagcctgcagaagttcggcgagagag ctttaaggcctgggcccgttgccagactgagccagaga ttcttaaggccgagtttgcgaggtgtccaagt cgtgaccgatctgacaaaggtgcacaccgagtgctgtc acggcgatctgctggaatgtgccgacgataga gccgacctggccaagtacatctgcgagaaccaggacag catcagcagcaagctgaaagagtgtctgca gaagcccctgtctgaaaagtctcactgtatcgccgagg tggaaaacgacgagatgcctgccgatctgccta gcctggctgccgattctgtgaaagcaaggacgtgtgca agaaactacgccgaggccaaggtatgtttctg ggcatgtttctgtatgagtacggccgagacaccccgac tattctgtggttctgctgtgcgggtggccaaaac ctacgagacaacctggaaaaatgtgcgcccgtgccgat cctcacgagtggtatgccaaggtgttcgacg agttcaagcctctggtggaagaacccagaaacctgatc aagcagaactgcgagctgttcgagcagctggg cgagtacaagttccagaatgccctgctcgtgcggttac accaagaaagtgcctcaggtgtccacacctacac tggtgaggtgtcccgaatctgggcaaagtgggcagcaa gtttgcaagcaccctgaggccaagagaat gccttgccggaggattacctgagcgtggtgtgaatcagc tgtgctgctgcacgagaaaacctgtgtc cgacagagtgaaccaagtgtgtaccgagagcctcgtaac agaaggccttgcttagcgccctggaagtg gacgagacatactgccc aaagagttcaacgccgagacattcacctccacgccgacatctgtacctgag cgagaaagagcggcagatcaagaagcagacagccctgg tgcgagctggttaagcacaagccc aaggcc accaaagaacagctgaaggccgtgatggacgacttcgc ccgctttgtcgagaagtgtgcaaggccgacg acaaagagacatgcttcgccgaagaggggcaagaaact ggtggctgcctctcaggctgctctcgacttgg aggaagcggaggatctggcgttccggaggctctgtgtg gaaccctcggtatgaaaacggcaatatc gccaatagccagattgccgcccagcagcgtcagagtgac atttctgggactgcagcactgggtgccgagct ggctagactgaatagagccggcatggtcaacgcctggac acccagcagcaacgacgataaccttggatt caagtgaacctgctgcggcgatgtgggtcacaggtgtgt tacacagggcgcccttagactggccagccac

		gagtatctgaaggcctttaaggtggcctacagcctgaacggccacgagttcgacttcatccacgacgtgaac aagaagcacaaagagtttgcggaactggaacaagaacgccgtgcacgtgaacctgttcgagacacct gtggaagcccagctacgtgcggctgtaccctacaagctgtcacaccgctgcactctgagattcgaactgtg ggatgcgagctgaacggctgtgctaactcctctgggcctgaagaacaacagcatccccgataagcagatca ccgccagctccagctataagacatggggcctgcacctgttcagctggaacccttctacgccagactggaca agcagggcaacttcaatgcttgggtggccggcagctacggcaatgatcagtggtgcaagtggacctggg cagcagcaaagaagtgaacggcatcatcaccaggggcgcagaaatttcggcagcgtgcagtttggcc agctacaaagtggcctactccaacgacagcgccaactggaccgagtatcaggacctagaaccggcag ctccaagatcttccccggcaattgggacaaccacagccacaagaagaatctgttcgaaaccctatcctgg ccagatatgtgcgcatctgcccgtggcctggcacaacagaattgccctgagactggaactgctcggctgtg gctctcaccaccaccatcacat
40	FP320 EGF-HSA D3- C1-C2-His	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVGRDVFPSYTCTCLKGYAGNHCETKGS LVEEPQ NLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCK HPEAKRMPCAEDCLSVFLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNGRPCFSALEV DETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVM DDFAAFVEKCKADDKETCFEEGKKLVAASQAALGLGSGSGSGSGSGSCVEP LGMENGNIANSQIAASSVRVTFGLQLHWPPELRLNRAGMVNAWTPSSNDNP WIQVNLRRMWVTGVVTQGASRLASHEYLKAFKVAYSLNGHEFDIHDVNKKHK EFVGNWNKNAVHVNLFETPVEAQYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCELNGCANPL GLKNNSIPDKQITASSYK TWGLHLFSWNPSYARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQ WLQVDLGSSKEVTGIITQGARNFGSVQFVASYKVAYSND SANWTEYQDPRTGS SKIFPGNWDNHSKKNL FETPILARYVRILPVAWHNRIALRLELLGCGSHHHHH
41	FP320 Ácido nucleico	ctggacatctgcagcaagaatcctgccacaacggcggcctgtgcgaagagatttcaagaagtgcggggcga cgtttcccagctacacctgtacatgtctgaagggctacgccggcaaccactgcgagacaaaaggatccctgg ggaagaaccccagaacctgtatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagctggcgagtacaagttccagaat gccctgctcgtgcggtacaccaagaaagtcctcaggtgtccacacctacactggtcgaggtgtccagaaacctg ggcaaagtgggcagcaagtgtgcaagcacctgaggccaaaagaatgccttgcgcgaggattgcctgagc gtgttctgaatcagctgtgcgtgtgcacgagaaaacccctgtgtccgacagagtaccaagtgtgtaccgag agcctgtgaacggcagacctgtcttagcgccctggagtgatgagacatactgtcccaagagttcaacgc cgagacattcaccttcacggcagacctgtatccctgagcgagaaaagagcggcgagatcaagaagcagacagc cctggtcgagctggtcaagcacaagcctaaggccaccaaaagaacagctgaaggccgtgatggacgacttcgc cgcttcgtggaaaagtgttgaaggccgacgacaaaagagacatgcttcgccgaagagggaagaaactgg ggctgcctctcaggctgctcctggacttgagggaagcggaggatctggcggttccggaggctctgtgtgaaccc ctcggtatggaaaacggcaatatcgccaatagccagatcgccgcagcagctcagagtacatttctgggact gcagactgggtgccagagctggctagactgaatagagccggcatgtgaacgcctggacaccagcagcaa cgacgacaacccctggattcaagtgaacctgtgcggcgtatgtgggtcacaggtgtgttacacagggcgctct agactggccagccagagtatctgaaggccttaaggtggcctacagcctgaacggccacgagttcgacttcatc cacgacgtgaacaagaagcacaaagagtttgcggcaactggaacaagaacgccgtgcacgtgaacctgttcg agacacctgtggaagcccagctacgtgcggctgtaccctacaagctgtcacaccgctgcacactgagattcgaa ctgctgggatgcgagctgaacggctgtgctaactcctctgggcctgaagaacaacagcatccccgataagcagat caccgcctccagcagctataagacatggggcctgcacctgttcagctggaaccctagctacgccagactggaca agcagggcaactttaatgcctgggtggccggcagctacggcaatgatcaatggctgcaagtggacctgggcagc agcaaagaagtgaacggcatcattaccaggggcgcaagaatttcggcagcgtgcagttctgtggccagctaca aagtggcctactccaacgacagcgccaactggaccgagtatcaggacctagaaccggcagctccaagatctt ccccggcaattgggacaaccacagccacaagaagaatctgttcgaaaccctatcctggccagatatgtgcgca ttctcccgtggcctggcacaacagaattgccctgagactggaactgctcggctgtggctctcaccaccaccatca ccat
42	FP330 EGF-HSA-C1-	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVGRDVFPSYTCTCLKGYAGNHCETKGS DAHKSE VAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAEN

	C2	CDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRL VRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQ AADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRF KAFAEVSKLVDTLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECC EKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEY ARRHPDYSVLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIK QNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEA KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDY VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFA AFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGSGSGSGSGSGSCVEPLGM ENGNIANSQIAASSVRVTFGLQHWVPELARLNAGMVNAWTPSSNDDNPWQ VNLLRRMWVTGVVTQGASRLASHEYLKAFKVAYSLNGHEFDIHDVNKKHKEFV GNWNKNAVHVNLFETPVEAQYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCELNGCANPLGLK NNSIPDKQITASSSYKTWGLHLFSWNP SYARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQ VDLGSSKEVTGIITQGARNFGSVQFVASYKVAYSND SANWTEYQDPRTGSSKIF PGNWDNHSHKKNLFETPILARYVRILPVAWHNRALRLELLGC
43	FP330 Ácido nucleico	ctggacatctgcagcaagaatccttgccacaacggcgccgtgtgcgaagagatttctaagaagtgcggggcga cgttttcccagctacacctgtacatgtctgaagggctacgccggaaccactgcgagacaaaaggatccgatgc tcacaagagcgcaggtggccacagattcaaggatctggcggaagagaacttcaaggccctggctgatcgct tcgctcagtatctccagcagagcccttcgaggaccagctgaagctggtcaacgaagtgcgaggttcgccaag acctgtgtggccgatgagagcgccgagaactgtgataagagcctgcacacctgttcggcgacaagctgtgtac agtggccacactgagagaaacctacggcgagatggccgactgctgtgccaagcaagagcccgagagaaacg agtgtctctgcagcacaaggacgacaaccccaacctgcctagactcgtgcgaccgaagtggatgtgatgtgc accgctttcacgacaacgaggaaccttctgaagaagtacgtgtacgagatcgccagacggcaccctacttt tatgcccctgagctgtgttcttcgccaagcgtataaggccgcttcaccgaatgttgccaggccgctgataaggc tgctgtctgtcctaagctggacgagctgagagatgagggaagccagctcgtccaagcagagactgaagt gcgccagcctgcagaagttcggcgagagagctttaaggcctgggcttgccagactgagccagagatttcta aggccgagtttgccgaggtgtcaagctcgtgaccgatctgacaaaggcgcacaccgagtgctgtcacggcgat ctgtggaatgtgacgacgatagacggacctggccaagtacatctgcgagaaccaggacagcatcagcagc aagctgaaagagtgctgcgagaagccctgctggaagagctcactgtatcgccgaggtggaaaacgacgag atgctgcccgatctgcctagcctggctgcccattctgtggaagcaaggacgtgtgcaagaactacgcccaggc caaggatgtgttctgggcatgttctgtatgagtacggcgacaccccgactattctgtgttctgtctgtcg ctggccaaaacctacgagacaaccttgaaaaatgtgcgcccgtgcccgatcctcacgagtggtatccaagg gttcgacgagttcaagcctctggtggaagaacccagaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagc tggcgagtagaagttccagaatgcctgtcgtgctgtgacccaagaaagtgctcaggtgtccacacctacac tggttgaggtgtcccgaatctgggcaagtggtggcagcaaggtgtgcaagcaccctgaggccaagagaatgcct tgcgccgaggattacctgagcgtgtgtgaatcagctgtgctgtgcgagagaaaacctgtgtccgacaga gtgaccaagtgtgtaccgagagcctcgtgaacagaaggcctgtttagcgcctggaagtggacgagacata cgtgcccagaagagttcaacgagcagacattcacctccacgacacatctgtaccctgagcgagaaagagcgg cagatcaagaagcagacagccctggtcagctggttaagcacaagcccaaggccaccaaagaacagctgaa ggcgtgatggacgacttcgcccgttctgcgagaagtgtgcaaggccgacgacaaagagacatgcttcgccc aagagggaagaaactggtgctgctcaggtgctcctggaaggaggaagcggaggatctggcggttc ggaggctctgtgtgaacccctcgccatggaacggcaatatcgccaatagccagattgccgacgagcgt cagagtgacatttctgggactgcagcactgggtgcccagctggctagactgaatagagccgcatggtcaacg cctggacaccagcagcaacgacgataaccttgattcaagtgaacctgtgcggcgtatgtgggtcacagg gtgttacacagggcgctctagactggccagccagagatctgaaggccttaagggtggcctacagcctgaac ggccacgagttcgacttcacacgacgtgaacaagaagcacaagagttgtcggaactggaacaagaacg ccgtgcacgtgaacctgttcgagacacctgtggaagcccagctgctgacctgacacagctgtcacaccg cctgcactctgagattcgaactgtgggatgcgagctgaacggctgtgctaacctctgggctgagaacaaca gcatccccgataagcagatcaccgacgctccagctataagacatggggcctgcacctgttcagctggaacctt

		cttacgccagactggacaagcagggcaactcaatgcttgggtggccggcagctacggcaatgatcagtggctg caagtggacctgggcagcagcaaagaagtgcagggcatcatcaccaggggcgccagaaattcggcagcgtg cagtttggccagctacaaagtggcctactccaacgacagcgccaactggaccgagtatcaggaccctagaac cggcagctccaagatctccccggcaattgggacaaccacagccacaagaagaatctgttcgaaacctatcc tgccagatatgtgcgcattctgccgtggcctggcacaacagaattgccctgagactggaactgctcggtgt
44	FP278 Etiqueta EGF– HSA–C1–C2 His	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVRGDVFPSTCTCLKGYAGNH CETKGSDAHKSE VAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAEN CDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NLPRL VRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQ AADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFP KA EFAEVS KLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECC EKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EY ARRHPDYSV VLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIK QNC ELF EQLGEYKFQ NALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEA KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETY VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFA AFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGGSGGSGGSGGSCVEPLGM ENGNIANSQIAASSVRVTFLGLQHWVPELARLN RAGMVNAWTPSSNDDNPWIQ VNLLRRMWVTGVVTQGASRLASHEYLKAFKVAYSLNGHEFDFIHDVNKKHKEFV GNWNKNAVHVNLFETPVEAQYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCELNGCANPLGLK NNSIPDKQITASSSYKTWGLHLFSWNPSYARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQ VDLGSSKEVTGIITQGARNFGSVQFVASYKVAYSND SANWTEYQDPRTGSSKIF PGNWDN HSHKKNLFETPILARYVRILPVAWHNR IALRLELLGCGSHHHHHH
45	FP278 Ácido nucleico	ctggacatctgcagcaagaatccttgccacaacggcgccgtgtgcgaagagatttcaagaagtgcggggcga cgttttcccagctacacctgtacatgtctgaagggctacggcgcaaccactgcgagacaaaaggatccgatgc tcacaagagcgaggtggccacagattcaaggatctggcggaagagaacttcaaggccctggtgctgatcgct tcgctcagtatctccagcagagcccttcgaggaccacgtgaagctggtcaacgaagtgcgaggttcgccaag acctgtgtggccgatgagagcgccgagaactgtgataagagcctgcacacctgttcggcgacaagctgtgtac agtggccacactgagagaaaactacggcgagatggccgactgctgtgccaagcaagagcccgagagaaaacg agtgtctctgcagcacaaggacgacaaccccaacctgcctagactcgtgcgaccgaagtggatgtgatgtgc accgccttcacgacaacgaggaaaccttctgaagaagtacctgtacgagatcgccagacggcaccctacttt tatgccctgagctgctgttcttcgccaagcgttataaggcgccttcaccgaatgttgccaggccgctgataaggc tgcctgtctgctgctaagctggacgagctgagagatgagggcaaagccagctctgccaagcagagactgaagt gcgccagcctgcagaagttcggcgagagagcttttaaggcctgggcccgttgccagactgagccagagatttcta aggccgagtttgccgaggtgtccaagctcgtgaccgatctgacaaaggtgcacaccgagtgtgtcacggcgat ctgctggaatgtgccgacgatagagccgacctggccaagtacatctgcgagaaccaggacagcatcagcagc aagctgaaagagtgtgcgagaagccctgctggaaggtctactgtatcgcgaggtggaaaacgacgag atgctcgccgatctgcctagcctggctgcccattctgtgaaagcaaggacgtgtgcaagaactacgccgaggc caaggatgtgttctgggcatgttctgtatgagtacggcgagacaccccgactattctgtggttctgtctgctg ctggccaaaacctacgagacaaccttgaaaaatgtgcgccgctgcccgtcctcacgagtgttatgccaaggt gttcgacgagttcaagcctctggtggaagaacccagaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagc tggcgaggtacaagttcagaatgccctgctcgtgcggtacaccaagaaagtgctcaggtgtccacacctacac tggttgaggtgtcccgaatctgggcaaagtgggcagcaagtggtgcaagcaccctgaggccaagagaatgcct tgcgccgaggtacacctgagcgtggtgtgaatcagctgtgcgtgtgcagagaaaacctgtgtccgacaga gtgaccaagtgtgtaccgagagcctcgtgaacagaaggccttgcttagcgccctggaagtggacgagacata cgtgcccaaagagttcaacgccgagacattcacctccacgccgacatctgtaccctgagcgagaaagagcgg cagatcaagaagcagacagccctggtcgagctggttaagcacaagcccaaggccaccaagaacagctgaa ggccgtgatggacgacttcggcgcttctgcgagaagtgtgcaaggccgacgacaaagagacatgttcggcg aagagggcaagaaactggtgctgcctctcaggctgtctcggactggaggaagcggaggatctggcggttc ggaggctctgtgtgaacccctcgcatggaacggcaatatcgccaatagccagattgccgccagcagcgt

		cagagtgcatttctgggactgcagcactgggtgccgagctggctagactgaatagagccggcatggtaacg cctggacacccagcagcaacgacgataacccttgattcaagtgaacctgtcgccgctatgtgggtcacaggt gtgttacacagggcgctctagactggccagccagcagatctgaaggccttaagggtggcctacagcctgaac ggccacgagttcgacttcatccacgacgtgaacaagaagcacaagagttgtcggaactggaacaagaacg ccgtgcacgtgaacctgttcgagacacctgtggaagccagctacgtcgccgtgtaccctacaagctgtcacaccg cctgcactctgagattcgaactgtgtggatgcgagctgaacggctgtgctaactcctctgggcctgaagaacaaca gcatccccgataagcagatcaccgccagctccagctataagacatggggcctgcacctgttcagctggaaccctt cttacgccagactggacaagcagggcaactcaatgcttgggtggccggcagctacggcaatgatcagtggtg caagtggacctgggcagcagcaagaagtgcagggcatcatcaccagggcgccagaaatttcggcagcgtg cagttgtggccagctacaaagtggcctactccaacgacagcgcaactggaccgagatcaggaccctagaac cggcagctccaagatctccccggcaattgggacaaccacagccacaagaagaatctgttcgaaaccctatcc tgccagatatgtgcgattctgccgtggcctggcacaacagaattgcctgagactggaactgtcggctgtgg ctctcaccaccaccatcaccat
46	FP068	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVGRDVFPSYCTCLKGYAGNHCEKDAHKSEVA HRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFQHKDDNPPLRLVR PEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAA DKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKA EFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEK PLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYAR RHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQN CELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKKHPEAKR MPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVP KEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV EKCKADDKETCFEEGKKLVAASQAALCPEPLGMENGNANSQIAASSVRVTF GLQHWVPELARLNRAAGMVNAWTPSSNDNPWIQVNLRLRMWVTGVVTQGASR LASHEYLKAFKVAYSLNGHEFDIHDVNNKKHKEFVGNWNKNAVHVNLFETPVEA QYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCELNGCANPLGLKNNSIPDKQITASSSYKTWGL HLFSWNPSYARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQVDLGSSEKVTGIITQGARNF GSVQFVASYKVAYSNDSANWTEYQDPRTGSSKIFPGNWDNHSKKNLFETPILA RYVRILPVAWHNRILRLLELLGC
47	FP068 Ácido nucleico	ctggacatctgtagcaagaaccttgccacaacggcgccctgtgcgaagagatttcaagaagtgcggggcga cgttttcccagctacacctgtacatgtctgaagggctacgccggcaacctgcgagacaaaggatgccaca agagcgaggtggccacagattcaaggatctggcggaagagaacttcaaggccctggctgtatcgccctcgct cagtatctccagcagagcccttcgaggaccacgtgaagctggtaacgaagtgcgagcttcgccaagacctg tgtggccgatgagagcgccgagaactgtgataagagcctgcacacctgttcggcgacaagctgtgtacagtgg ccacctgagagaaacctacggcgagatggccgactgtgtgccaagcaagagcccgagagaaacgagtgc ttcctccagcacaaggacgacaaccccaacctgcctagactcgtgcgacccgaagtggatgtgtgtgcaccgc cttcacgacaacgaggaaaccttcctgaagaagtacgtgtacgagatcgccagacggcaccctacttttatgcc cctgagctgtgttctcgccaagcgggtataaggccgcttcaccgaatgttgccaggccgctgataaggctgctg tctgtgcctaagctggacgagctgagagatgagggcaaagccagctcgtgccaagcagagactgaaatgcgcc agcctccagaagttcggcgagagagctttaaggcctgggcccgttgccagactgagccagagatttctaaggcc gagtttgccgaggtgtccaagctgtgaccgatctgacaaaggtgcacaccgagtgctgtcacggcgatctgtg gaatgtgccgacgatagagccgacctggccaagtacatctgcgagaaccaggacagcatcagcagcaagctg aaagagtgtgcgagaagcccctgtgaaaagtctactgtatcgcggaggtggaaaacgacgagatgcctg ccgatctgcctagcctggctgccgattcgtggaaagcaaggacgtgtgcaagaactacgccgaggccaaggat gtgtttctgggcatgtttctgtatgagtacggccgacacacccgactattctgtgttctgtgtcgtgcggctggcca aaacctacgagacaaccttgaaaaatgtgcgccgtgcggatcctcacgagtgttatgccaaggtgttcgac gagttcaagcctctgttggaagaacccagaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagctgggcg agtacaagttccagaatgcctgtctgtgcggtagaccaagaagtgcctcaggtgtccacacctacactggtg

		aggtgtcccgaatctgggcaaagtgggcagcaagtgttgcaagcaccctgaggccaagagaatgccttgccg cgaggattacctgagcgtggtgctgaatcagctgtgcgtgctgcacgagaaaaccctgtgtccgacagagtgac caagtgtgtaccgagagcctcgtgaacagaaggcctgttttagcgccctggaagtggacgagacatacgtgc caaagagttcaacgccgagacattcacctccacgccgacatctgcacccgtgtccgagaaagagcggcagat caagaagcagacagccctggctgagctggtaagcacaagcccaaggccaccaagaacagctgaaggcc gtgatggacgacttgcgcctttgtcgaagtgctgaagccgacgacaaagagacatgttcgccaaga gggcaagaaactggtggctgcttctcaggccgctgtgtgtggaacccctcgcatgaaaacggcaatatcgc caatagccagattgccgccagcagcgtcagagtgcatttctgggactgcaacactgggtgccgagctggcta gactgaatagagccggcatggtcaacgcctggacaccagcagcaacgacgataatccctgattcaagtga cctgctgcggcgtatgtgggtcacaggtgtgttacacagggcgcaagcagactggccagccacgagtatctgaa ggccttaaggtggcctacagcctgaacggccacgagttcgaactcatccacgacgtgaacaagaagcacaaa gagttgtcggcaactggaacaagaacgcctgcacgtgaacctgttcgagacacctgtggaagcccagtacgt gcggctgtaccctacaagctgtcacaccgctgcactctgagattcgaactgctgggatgcgagctgaacggctgt gtaatcctctgggctgaagaacaacagcatccccgataagcagatcacgccagctccagctataagacatg gggctgcacctgtcagctggaaccccttctacgccagactggacaagcagggcaactcaatgctgggtggcc ggcagctacggcaatgatcagtggtgcaagtggacctgggcagcagcaaagaagtgcagggcatcatcacc caaggggccagaaattcggcagcgtgcagttcgtggccagctacaaagtggcctactccaacgacagcgcca actggaccgagtatcaggaccctagaaccggcagctccaagatcttccccggcaattgggacaaccacagcca caagaagaatctgttgaaacccctatcctggccagatatgtgcgcattctgcccgtggcctggcacaacagaatt gcctgagactggaactgctcggctgc
48	FP776	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVGRDVFPSYCTCLKGYAGNHCETKDAHKSEVA HRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKKDDNPNLPRLVR PEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAA DKAACLLPKLDELRLDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKA EFAEVSKLVDTLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEK PLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYAR RHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQN CELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKR MPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVP KEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV EKCKADDKETCFEEGKKLVACVEPLGMENGNIANSQIAASSVRVTFGLQLHW VPELARLNRMVNAWTPSSNDDNPWIQVNLRRMWVTGVVTQGASRLASHE YLKAFKVAYSLNGHEFDIFIHDVNKKHKEFVGNWNKNAVHVNLFETPVEAQYVRL YPTSCHTACTLRFELLGCELNGCANPLGLKNNIPDKQITASSSYKTWGLHLFSW NPSYARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQVDLGSSKEVTGIITQGARNFGSVQF VASYKVAYSND SANWTEYQDPRTGSSKIFPGNWDNHSKKNLFETPILARYVRIL PVAWHNRIALRLELLGC
49	FP776 Ácido nucleico	ctggacatctgtagcaagaacccttgccacaacggcggcctgtgcgaagagatttcaagaagtgcggggcga cgttttcccagctacacctgtacatgtctgaagggtacgccggcaaccactgcgagacaaaggatgccaca agagcgaaggtggcccacagattcaaggatctgggcgaagagaactcaaggccctggtgctatgccttcgct cagtatctcagcagagcccttcgaggaccagtggaagctggtcaacgaagtgcgaggttcgccaagacctg tgtggccgatgagagcgccgagaactgtgataagagcctgcacaccctgttcggcgacaagctgtgtacagtgg ccactgagagaaacctacggcgagatggccgactgctgtgccaagcaagagcccagagaaacgagtgcc ttctccagcacaaggacgacaaccccaacctgcctagactctgctgacccgaagtggatgtgatgtgcaccgc cttcacgacaacgaggaaacctcctgaagaagtacctgtacgagatgcgcagacggcaccctactttatgcc cctgagctgctgttcttcgccaagcgggtataaggccgcttcaccgaatgttgccaggccgctgataaggctgctg tctgtgcctaagctggacgagctgagagatgagggcaaagccagctctgccaagcagagactgaaatgcgcc agcctccagaagttcggcgagagagctttaaaggcctgggcccgttgccagactgagccagagatttctaaggcc gagtttgcgaggtgtccaagctcgtgaccgatctgacaaaggtgcacaccgagtgctgtcacggcgatctgctg

		gaatgtgccgacgatagagccgacctggccaagtacatctgcgagaaccaggacagcatcagcagcaagctg aaagagtgtgctgagaagcccctgctggaaaagtctactgtatcgccgaggtggaaaacgacgagatgctg ccgatctgcctagcctggctgccgatttctgtaaagcaaggacgtgtgcaagaactacgccgaggccaaggat gtgtttctgggcatgtttctgtatgagtaccccgcagacaccccactattctgtggttctgctgctgctgcca aaacctacgagacaacctggaaaaatgctgcccgtgcccgatcctcacgagtgttatgccaagggtgttcgac gagttcaagcctctggtggaagaaccccagaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagctggcg agtacaagttccagaatgccctgctgctgctggtacaccaagaaagtcctcagggttccacacctacactggtg aggtgtcccgaatctgggcaaagtgggcagcaaggttgcaagcaccctgaggccaagagaatgcctgctg cgaggattacctgagcgtggtgctgaatcagctgtgctgctgacgagaaaaacccctgtgtccgacagagtac caagtgtgtaccgagagcctctgaacagaaggcctgttttagcgccctggaagtgacgagacatacgtgc ccaaagagttcaacgccgagacattcacctccacgccgacatctgcaccctgtccgagaaagagcggcagat caagaagcagacagccctggtcagctggttaagcacaagcccaaggccaccaagaacagctgaaggcc gtgatggacgacttcgccgcttctgagaagtgtgcaagggcgcagacaaagagacatgttcgccgaaga gggcaagaactggtggcctgtgtgaacccctcggtatggaaaacggcaatatcgcaatagccagattgcc gccagcagcgtcagagtacatttctggactgcaacactgggtgccgagctggctagactgaatagagccgg catggtcaacgcctggacaccagcagcaacgacgataatccctggattcaagtgaacctgtcgccgctatgt gggtcacaggtgtgttacacagggcgcaagcagactggccagccacgagtatctgaaggccttaaggtggcct acagcctgaacggccacgagttcgacttcatccacgacgtgaacaagaagcacaagagttgtcggcaactg gaacaagaacgccgtgcacgtgaacctgttcgagacacctgtggaagcccagtagctgcccgtgtaccctaca agctgtcacaccgctgactctgagattcgaactgtggatgagcgtgaacggctgtgtaatccttgggct gaagaacaacagcatccccgataagcagatcacccgagctccagctataagacatggggcctgcacctgttc agctggaacccttctacgccagactggacaagcagggcaactcaatgcttgggtggccggcagctacggcaa tgatcagtggtgcaagtggacctgggcagcagcaagaagtgaaggcatcataccaagggggccagaa attcggcagcgtgcagttcgtggcagctacaaagtggcctactccaacgacagcgccaactggaccgagtatc aggaccctagaaccggcagctccaagatcttcccggcaattgggacaaccacagccacaagaagaatctgt cgaaaccctatcttggccagatatgtgctgctgctgctgctggcacaacagaattgcctgagactgga actgctcggctgc
50	FP284	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVRGDVFPSTCTCLKGYAGNHCETKGSDAHKSE VAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAEN CDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKKDDNPNLPR VRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTCECCQ AADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRF KAFAEVSCLVTDLTkVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECC EKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY ARRHPDYSVLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVDFEFKPLVEEPQNL QNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEA KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVD ETYPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFA AFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGVGSGSGSGSGSGSCVEPLGM ENGNIANSQIAASSVRVTFGLQHWVPELARLNAGMVNAWTPSSNDNPWQ VNLRRMWVTGVVTQGASRLASHEYLKAFKVAYSLNGHEFDIHDVNKKHKEFV GNWNKNAVHVNLFETPVEAQYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCELNGCANPLGLK NNSIPDKQITASSSYKTWGLHLFSWNP SYARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQ VDLGSSKEVTGIITQGARNFGSVQFVASYKVAYSND SANWTEYQDPRTGSSKIF PGNWDNHSHKKNLFETPILARYVRILPVAWHNRILRLLELLGC
51	FP284 Ácido nucleico	ctggacatctgcagcaagaatcctggccacaacggcggcctgtgccaagagatttctaagaagtgcggggcga cgttttcccagctacacctgtacatgtctgaagggctacgccggcaaccactgcgagacaaaaggatccgatgc tcacaagagcagaggtggccacagattcaaggatctgggcgaagagaactcaaggccctggtgctgatcgct tcgctcagtatctccagcagagcccttcgaggaccagctgaagctggtcaacgaagtaccgaggttcgccaag acctgtgtggccgatgagagcgccgagaactgtgataagagcctgcacacctgttcggcgacaagctgtgtac

		agtggccacactgagagaaacctacggcgagatggccgactgctgtgccaagcaagagcccgagagaaacg agtgcttctgcagcacaaggacgacaaccccaacctgcctagactcgtgcgacccgaagtggatgtgatgtgc accgcctttcacgacaacgaggaaccttctgaagaagtacctgtacgagatcgccagacggcaccctacttt tatgcccctgagctgctgttctcgccaagcgggtataaggcgccttcaccgaatgttgccaggccgctgataaggc tgcctgtctgctgctaagctggacgagctgagagatgagggcaaagccagctctgccaagcagagactgaagt gcgccagcctgcagaagttcggcgagagagcttttaaggcctggggcgttgccagactgagccagagatttcta agggcgagtttgccgaggtgtccaagctcgtgaccgatctgacaaaggtgcacaccgagtgtgtcacggcgat ctgctggaatgtgccgacgatagagccgacctggccaagtacatctgcgagaaccaggacagcatcagcagc aagctgaaagagtgtgcgagaagcccctgctggaaggtctactgtatcgccgaggtggaaaacgacgag atgctgcccgatctgcctagcctggctgcccgttctgtggaagcaaggacgtgtgcaagaactacgccgaggc caaggatgtgttctgggcatgttctgtatgagtacgcccgcagacaccccgactattctgtggttctgctgctgcg ctggccaaaacctacgagacaacctggaaaaatgctgcgcgctgcccgatcctcacgagtgttatgccaaggt gttcgacgagttcaagcctctggtggaagaacccagaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagc tggcgagtagacaagttccagaatgccctgctcgtgcggtacaccaagaaagtgctcaggtgtccacacctacac tgggtgaggtgtcccgaatctgggcaaagtgggcagcaaggtgtgcaagcacctgaggccaagagaatgcct tgcgcccaggtattacctgagcgtggtgtgaatcagctgtgctgctgcagagaaaacctgtgtccgacaga gtgaccaagtgtgtaccgagagcctcgtgaacagaaggccttgccttagcgccttggaagtgagcagacata cgtgcccagaagagttcaacgcccagacattcacctccacgccgacatctgtacctgagcgagaaagagcgg cagatcaagaagcagacagccctggtcgtgagctggttaagcacaagcccgaagccaccaagaacagctgaa ggccgtgatggacgacttcgccgccttgcgagaagtgtgcaaggccgacgacaaaagagacatgttcgccg aagagggcaagaaactgggtgctgctcctcaggtgctctcggagtgggaggaagcggaggatctggcggttc cggaggctctgtgtggaacccctcggtatggaaaacggcaatatcgccaatagccagattgccgccagcagc gtgagagtacatttctgggactgcagcactgggtgcccagctggtagactgaatagagccggcatggtcaac gcctggacaccagcagcaacgacgataaccttggtattcaagtgaacctgctgcggcgatgtgggtcacagg tgtgttacacagggcgctctagactggccagccacgagtatctgaaggcctttaaggtggcctacagcctgaac ggccacgagttcgacttcacgacgctgaacaagaagcacaagagttgttcggcaactggaacaagaacg ccgtgcacgtgaacctgttcgagacacctgtggaagcccagtagctgcgggtgtacctacaagctgtcacaccg cctgactctgagattcgaactgtgggtagcgtgaacggctgtgctaactcttgggcctgaagaacaaca gcatccccgataagcagatcacccgagctccagctataagacatggggcctgcacctgttcagctggaacctt cttagccagactggacaagcagggcaactcaatgcttgggtggccggcagctacggcaatgatcagtggtg caagtggacctgggcagcagcaagaagtgcaggtcatcatccacggggcgccagaatttcggcagcgtg cagttgtggccagctacaaagtggcctactccaacgacagcgccaactggaccgagtatcaggaccctagaac cggcagctccaagatctccccggcaattgggacaaccacagccacaagaagaatctgttcgaaacctatcc tggccagatatgtgcgcatctgcccgtggcctggcacaacagaattgccctgagactggaactgctcggtgt
52	FP138	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVGRGDVFPSTCTCLKGYAGNH CETKGS DAHKSE VAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAEN CDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NLPRL VRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFT ECCCQ AADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFP KA EFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADD RADLAKYICENQDSISSKLKECC EKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EY ARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIK QNCELFEQLGEYKFQ NALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEA KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETY VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFA AFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGGSGGSGGSGGSCVEPLGMEN GN IANSQIAASSVRVTFLGLQHWVPELARLNRAGMVNAWTPSSNDDNPWIQVNL LRRMWVTGVVTQGASRLASHEYLKAFKVAYS LNHGHEFDIHDVNKKHKEFVGN WNKN AVHVNLFETPVEAQYVRLYPT SHTACTLRFELLGCELNGCANPLGLKNN SIPDKQITASSSYKTWGLHLFSWNPSYARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQVD

		LGSSKEVTGIITQGARNFGSVQFVASYKVAYSNDSANWTEYQDPRTGSSKIFPG NWDNHSHKKNLFETPILARYVRILPVAWHNRIRALRELLGC
53	FP138 Ácido nucleico	ctggacatctgcagcaagaatccttgccacaacggcgccgtgtgcgaagagatttctaagaagtgcggggcga cgttttcccagctacacctgtacatgtctgaagggctacgccggcaaccactgcgagacaaaaggatccgatgc tcacaagagcgaggtggccacagattcaaggatctggcggaagagaacttcaaggccctgggtgctgatcgct tcgctcagtatctccagcagagcccttcgaggaccacgtgaagctggtcaacgaagtgcgaggtcgccaag acctgtgtggccgatgagagcgccgagaactgtgataagagcctgcacacctgttcggcgacaagctgtgtac agtggccacactgagagaaacctacggcgagatggccgactgctgtgccaaagcaagagcccgagagaaacg agtgtctctgcagcacaaggacgacaaccccaacctgctagactcgtgcgaccgaagtggatgtgtgtgc accgctttcacgacaacgaggaaccttctgaagaagtacgtgtacgagatcgccagacggcaccctacttt tatgcccctgagctgtgttcttcgccaagcgggtataaggccgcttcaccgaatgttgccaggccgctgataaggc tgctgtctgtcctaagctggacgagctgagagatgagggcaagccagctctgccaagcagagactgaagt gcgccagcctgcagaagttcggcgagagagctttaaggcctgggcccgttgccagactgagccagagattccta aggccgagtttgcgaggtgtccaagctcgtgaccgatcgacaagggtgcacaccgagtgtgtcacggcgat ctgtggaatgtgccgacgatagaccgacctggccaagtacatctgcgagaaccaggacagcatcagcagc aagctgaaagagtgtcgcgagaagccctgctggaaggtctactgtatcgccgaggtggaaaacgacgag atgctgccgatctgcctagcctggctgccgatttcgtggaagcaaggacgtgtgcaagaactacgccgaggc caaggatgtgttctgggcatgttctgtatgagtacgcccgagacaccccgactattctgtgttctgtctgcgg ctggccaaaacctacgagacaaccttgaaaaatgtgcgccgctgcccgatcctcacgagtggtatgccaaggt gttcgacgagttcaagcctctgggtggaagaaccccagaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagc tgggcgagttacaagttccagaatgcctgtcgtgcggtacaccaagaaagtgcctcaggtgtccacacctacac tggttgaggtgtcccgaatctgggcaaagtgggcagcaaggtgtgcaagaccctgaggccaagagaatgcct tgcgccgaggattacctgagcgtggtgtgaatcagctgtcgtgtgcacgagaaaacccctgtgtccgacaga gtgaccaagtgtgtaccgagagcctcgtgaacagaaggcctgttagcgccctggaagtggacgagacata cgtgccc aaagagtcaacgccgagacattcaccttcacgccgacatctgtacctgagcgagaaagagcgg cagatcaagaagcagacagccctggtcagctggttaagcacaagcccaaggccaccaagaacagctgaa ggccgtgatggacgacttcgccgcttctgcgagaagtgtgcaaggccgacgacaaagagacatgttcgccg aagagggcaagaaactggtgctcctctcaggctgctcctcgagggaagcggaggtatggcggttcggagg ctctgtgtggaacccctcgcatggaaaacggcaatatcgccaatagccagattgccgccagcagcgtcagag tgacatttctgggactgcagcactgggtgcccagctggctagactgaatagagccggcatggtcaacgcctgga caccagcagcaacgacgataaccttggttaagtgaaactgctgcggcgatgtgggtcacaggtgtgttac acagggcgccctctagactggccagccacgagtatctgaaggcctttaagggtggcctacagcctgaacggccacg agttcgacttcacacgacgtgaacaagaagcacaagaagttgtcggaactggaacaagaacgccgtgca cgtgaacctgttcgagacacctgtggaagcccagctacgtgcggctgtacctacaagctgtcacaccgctgcac tctgagattcgaactgctgggatgcgagctgaacggctgtgctaactccttggccctgagaacaacagcatccc cgataagcagatcaccgccagctccagctataagacatggggcctgcacctgttcagctggaacctcttacgc cagactggacaagcagggaactcaatgctgggtggccggcagctacggcaatgatcagtggtgcaagtg gacctgggcagcagcaagaagtacagggcatcatcaccagggcgccagaaattcggcagcgtgcagttg tgccagctacaaagtggcctactccaacgacagcgccaactggaccgagatcaggacctagaaccggca gctccaagatcttcccggcaattgggacaaccacagccacaagaagaatctgttcgaaacccctatcctggcc agatatgtgcgcattctgccgctggcctggcacaacagaattgccctgagactggaactgctcggctgt
54	FP811	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVRGDVFPSTCTCLKGYAGNHCETK G SDAHKSE VAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLNEVTEFAKTCVADESAEN CDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKKDDNPPLRL VRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTCCQ AADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRF KAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADD RADLAKYICENQDSISSKLKECC EKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFEDEFKPLVEEPQNL LIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEA

		KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETY VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFA AFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAAL GGGGSC VEPLGMENGNIANSQIA ASSVRVTLGLQHWVPELARLNRMVNAWTPSSNDNPWIQVNLRRMWVT GVVTQGASRLASHEYLKAFKVAYSLNGHEFDIHDVNKKHKEFVGNWNKNAVH VNLFETPVEAQYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCELNGCANPLGLKNNSIPDKQIT ASSSYKTWGLHLFSWNPSYARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQVDLGSSKEV TGIIITQGARNFGSVQFVASYKVAYSNDSANWTEYQDPRTGSSKIFPGNWDNHS KKNLFETPILARYVRILPVAWHNRIRALRLELLGC
55	FP811 Ácido nucleico	ctggacatctgcagcaagaatcctgccacaacggcgccctgtgcgaagagatttcaagaagtgcggggcga cgtttcccagctacacctgtacatgtctgaagggctacgccggcaaccactgcgagacaaaaggatccgatgc tcacaagagcgaaggtggccacagattcaaggatctggcggaagagaactcaaggccctggtgctgatcgct tcgctcagtatctccagcagagcccttcgaggaccacgtgaagctggtcaacgaagtgcgaggttcgccaag acctgtgtggccgatgagagcgccgagaactgtgataagagcctgcacaccctgttcggcgacaagctgtgtac agtggccacactgagagaaaacctacggcgagatggccgactgtgtgccaagcaagagcccagagagaaacg agtgtctcctgcagcacaaggacgacaaccccaacctgctagactcgtgcgaccgaagtggatgtgatgtgc accgcttccagacaacgaggaaaccttctgaagaagtacctgtacgagatcgccagacggcaccctacttt tatgcccctgagctgtgttcttcgccaagcgtataaggccgcttcaccgaatgttgccaggccgctgataaggc tgcctgtctgctgctaagctggacgagctgagagatgagggcaaagccagctctgccaagcagagactgaagt gcgccagcctgcagaagttcggcgagagagctttaaaggcctgggcccgttgccagactgagccagagatttcta aggccgagtttgcgaggtgtccaagctcgtgaccgatctgacaaaggtgcacaccgagtgtgtcacggcgat ctgctggaatgtgccgacgatagagccgacctggccaagtacatctgcgagaaccaggacagcatcagcagc aagctgaaagagtgtcgcgagaagcccctgctggaagagctcactgtatcgcgaggtggaaaacgacgag atgctcgcgatctgcctagcctggctgcccgttctgtggaagcaaggacgtgtgcaagaactacgcccaggc caaggatgtttctgggcatgtttctgtatgagtacgcccgcagacaccccactattctgtgtgtctgtctgcgg ctggccaaaacctacgagacaaccttgaaaaatgtgcgcccgtgcgacacctcagagtggtatgccaaggt gttcgacgagttcaagcctctggtggaagaaccccagaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagc tggcgagtagacaagttccagaatgccctgctcgtgcggtacaccaagaaagtgctcaggtgtccacacctacac tgggtgaggtgtcccgaatctgggcaaagtgggcagcaaggttgcaagaccctgaggccaagagaatgcct tgcgcccaggattacctgagcgtggtgtgaatcagctgtgcgtgctgcagagaaaacctgtgtccgacaga gtgaccaagtgtgtaccgagagcctcgtgaacagaaggcctgtttagcgcctggaagtggacgagacata cgtgcccaaagagttcaacgcccagacattcacctccacgccgacatctgtacctgagcgagaaagagcgg cagatcaagaagcagacagccctggtcagctggttaagcacaagcccaaggccaccaagaacagctgaa ggccgtgatggacgacttcggcgcttctgcgagaagtgtgcaaggccgacgacaaagagacatgtctgcgg aagagggcaagaaactggtgctgcctctcaagctgctcgcgaggcggaggatctgtgtggaacctctggc atggaacacggcaatatcgccaatagccagattgccgacgagcgtcagagtgacatttctgggactgcagca ctgggtgcccagctggctagactgaatagaccggcatggtcaacgcctggacaccagcagcaacgacga taaccttggaattcaagtgaacctgctgcggcgtatgtgggtcacaggtgtgttacacagggcgccctctagactgg ccagccacgagtatctgaaggccttaaggtggcctacagcctgaacggccacgagttcgacttcatccacgacg tgaacaagaagcacaagagttgtcggaactggaacaagaacgccgtgcacgtgaacctgttcgagacacc tgtggaagcccagtagctgcggctgtaccctacaagctgtcacaccgcctgcactctgagattcgaactgtggga tgcgagctgaacggctgtgtaacctctggcctgaagaacaacagcatccccgataagcagatcaccgccag ctccagctataagacatggggcctgcacctgttcagctggaaccttcttacgccagactggacaagcagggcaa cttcaatgcttgggtggccggcagctacggcaatgatcagtggtgcaagtggaacctgggcagcagcaagaa gtgacaggcatcatcaccaggcgccagaaatttcggcagcgtgcagttgtggccagctacaaagtggccta ctccaacgacagcgccaactggaccgagtatcaggacctagaaccggcagctccaagatctccccggcaat tgggacaaccacagccacaagaagaatctgttcgaaacctatcctggccagatatgtgcgcatctgtcccgtg gcctggcacaacagaattgcctgagactggaactgctcggctgc
56	FP010	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVGRDVFPSYTCCLKGYAGNHCETKGSDAHKSE VAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAEN

		CDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRL VRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQ AADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRF KAFAEVSKLVDTLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECC EKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY ARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVDFEFKPLVEEPQNL QNCLEFQELGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEA KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVD VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFA AFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGGGSGGGGSCVEPLGMENGIN ANSQIAASSVRVTFGLQHWPELARLNRAGMVNAWTPSSNDDNPWIQVNLRL RMWVTGVVTQGASRLASHEYLKAFKVAYSLNGHEFDIHDVNKKHKEFVGNWN KNAHVNLFPVEAQYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCELNGCANPLGLKNNSIP DKQITASSSYKTWGLHLFSWNPYARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQVDLG SSKEVTGIITQGARNFGSVQFVASYKVAYSNDSANWTEYQDPRTGSSKIFPGNW DNHSHKKNLFETPILARYVRILPVAWHNRALRLELLGC
57	FP010 Ácido nucleico	ctggacatctgcagcaagaatccttgccacaacggcggcctgtgcgaagagatttctcaagaagtgcggggcga cgtttcccagctacacctgtacatgtctgaagggctacgccggaaccactgcgagacaaaaggatccgatgc tcacaagagcgcaggtggccacagattcaaggatctggcggaagagaacttcaaggccctggctgatcgct tcgctcagtatctccagcagagcccttcgaggaccagctgaagctggtcaacgaagtgcgaggttcgccaag acctgtgtggccgatgagagcgcgagaaactgtgataagagcctgcacacctgttcggcgacaagctgtgtac agtggccacactgagagaaacctacggcgagatggccgactgtgtgccaagcaagagcccgagagaaacg agtgtctctgcagcacaaggacgacaaccccaacctgcctagactcgtgcgaccgaagtggatgtgatgtgc accgcttcacgacaacgaggaaaccttctgaagaagtacgtgtacgagatcgccagacggcaccctacttt tatgcccctgagctgtgttcttcgccaagcgtataaggccgcttcaccgaatgttgccaggccgctgataaggc tgctgtctgtcctaagctggacgagctgagagatgagggaagccagctcgtccaagcagagactgaagt gcgccagcctgcagaagttcggcgagagagctttaaggcctgggcttgccagactgagccagagatttcta aggccgagtttgccgaggtgtcaagctcgtgaccgatctgacaaagggtgcacaccgagtgctgtcacggcgat ctgtggaatgtgccgacgatagagccgacctggccaagtacatctgcgagaaccaggacagcatcagcagc aagctgaaagagtgctgcgagaagccctgctggaagaaagtctactgtatcgccgaggtggaaaacgacgag atgctgccgatctgcctagcctggctgccgatttctggaagcaaggacgtgtgcaagaactacgccgaggc caaggatgtgttctgggcatgttctgtatgagtacgcccgacaccccgactattctgtgttctgtctgtcg ctggccaaaacctacgagacaacccctggaaaaatgtgcgccgctgcgacatctcacgagtggtatccaagg gttcgacgagttcaagcctctgggtggaagaacccagaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagc tggcgagtagaagttccagaatgcctgtcgtgcggtacaccaagaaagtgctcagggtgtccacacctacac tggttgaggtgtcccgaatctgggcaagtggtggcagcaaggttgcaagcaccctgaggccaagagaatgcct tgcgccgaggattacctgagcgtggtgtgaatcagctgtgcgtgtgcagagaaaacccctgtgtccgacaga gtgaccaagtgtgtaccgagagcctcgtgaacagaaggcctgtgttagcgcctggaagtggacgagacata cgtgcccagaagagttcaacgccgagacattcacctccacgccgacatctgtaccctgagcgagaaagagcgg cagatcaagaagcagacagccctggtcgagctggttaagcacaagcccaaggccaccaaagaacagctgaa ggcgtgatggacgacttcggcgttcttcgagaagtgctgcaaggccgacgacaaagagacatgtcttcggc aagagggcaagaaactggtggtgcctcctaagctgctcgcgaggcgaggctccggaggcgaggatcttg tgtgaacccctcggcatggaaaacggcaatatcgccaatagccagattgcgcccagcagcgtcagagtgaca tttctgggactgcagcactgggtgcccagctggtagactgaatagagccggcatggtcaacgcctggacacc cagcagcaacgacgataacccctggattcaagtgaacctgtgcggcgatgtgggtcacagggtgtttacacag ggcgctctagactggccagccagagtatcgaaggcctttaagggtggctacagcctgaacggccacgagttc gactcatccacgacgtgaacaagaagcacaagagttgttcggcaactggaacaagaacgcggtgcagctga acctgtcgagacacctgtggaagcccagtagctgcggctgtaccctacaagctgtcacaccgctgcactctga gattcgaactgtgggatgagagctgaacggctgtgtaacctctgtggcctgaagaacaacagcatccccgata agcagatcaccgccagctccagctataagacatggggcctgcacctgttcagctggaaccccttctacgccagac

		tggacaagcagggcaacttcaatgcttgggtggccggcagctacggcaatgatcagtggctgcaagtggacctg ggcagcagcaaagaagtgacagggcatcatcaccagggcgccagaaatttcggcagcgtgcagtttggcca gctacaaagtggcctactccaacgacagcgccaactggaccgagtatcaggaccctagaaccggcagctcca agatcttccccggcaattgggacaaccacagccacaagaagaatctgttcgaaacccctatctggccagatatg tgcgcattctgcccgtggcctggcacaacagaattgccctgagactggaactgctcggtgc
58	FP816	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVRGDVFPSTCTCLKGYAGNH CETKDAH KSEVA HRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHV KLVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQH KDDNP NLPRLVR PEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFECCQAA DKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKA EFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADD RADLAKYICENQDSISSKLKECCEK P LLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYAR RHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQN CELFEQLGEYKFQNAL LVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKR MPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVP KEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV EKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLC VEPLGMENGIANSQIAASSVRV TFLGLQHWVPELARLNRAGMVNAWTPSSNDDNPWIQVNL LRMWVTGVVTQG ASRLASHEYLKAFKVAYSLNGHEFD FIDHVNKKHKEFVGNWNKNNAVHVNLFETP VEAQYVRLYPT SCHTACTLRFELLGCELNGCANPLGLK NNSIPDKQITASSSYKT WGLHLFSWNPSYARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQVDLGSSKEVTGIITQG ARNFGSVQFVASYKVAYSND SANWTEYQDPRTGSSKIFPGNWDNHSHKKNLFE TPILARYVRILPVAWHNR IALRLELLGC
59	FP816 Ácido nucleico	ctggacatctgcagcaagaatccttgccacaacggcgccctgtgcgaagagatttcaagaagtgcggggcga cgttttcccagctacacctgtacatgtctgaagggctacggcgcaaccactgcgagacaaaggatgccaca agagcgaggtggccacagattcaaggatctggcggaagagaacttcaaggccctggtgctgatcgcttcgct cagtatctccagcagagcccttcgaggaccacgtgaagctggtcaacgaagtgaccgagttcgccaagacctg tgtggccgatgagagcgccgagaactgtgataagagcctgcacaccctgttcggcgacaagctgtgtacagtgg ccacactgagagaaacctacggcgagatggccgactgctgtgccaagcaagagcccagagaaaacgagtgc ttctgcagcacaaggacgacaaccccaacctgcttagactcgtgcgaccgaagtggatgtgatgtgcaccgc ctttcacgacaacgaggaaaccttctgaagaagtacctgtacgagatcgccagacggcaccctactttatgcc cctgagctgctgttctcgccaagcgggtataaggccgcttcaccgaatgttgccaggccgctgataaggctgctg tctgtgcctaagctggacgagctgagagatgagggcaaaagccagctctgccaagcagagactgaagtgcgcc agcctgcagaagtgcggcgagagagcttttaaggcctgggcccgttgccagactgagccagagatttctaaggcc gagtttgcgaggtgtccaagctcgtgaccgatctgacaaaggtgcacaccgagtgtgtcacggcgatctgctg gaatgtgccgacgatagagccgacctggccaagtacatctgcgagaaccaggacagcatcagcagcaagctg aaagagtgtgcgagaagcccctgctgaaaagtctactgtatcgccgaggtggaaaacgacgagatgcctg ccgatctgcctagcctggctgcgatttcgtggaaagcaaggacgtgtgcaagaactacgccgaggccaaggat gtgttctgggcattgttctgtatgagtacgccgcagacaccccgactattctgtggttctgtgctgcggctggcca aaacctacgagacaaccttgaaaaatgctgcgcccgtgcgacacctcagagtggtatgccaaggtgttcgac gagttcaagcctctggtggaagaacccagaaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagctggcg agtgtaagttccagaatgccctgctgctgcgttacaccaagaaagtgcctcaggttccacacctacactgggtg aggtgtcccgaatctgggcaagtggtggcagcaagtggtgcaagcaccctgaggccaagagaatgccttgcc cgaggattacctgagcgtggtgctgaatcagctgtgctgctgcagagaaaacccctgtgtccgacagagtgc caagtgtgtaccgagagcctcgtgaacagaaggcctgtttagcgcctggaagtggacgagacatacgtgc ccaaagagttcaacgccgagacattcacctccacgccgacatctgtaccctgagcgagaaagagcggcagat caagaagcagacagccctggtcgtgagctggttaagcacaagcccaaggccacaaagaacagctgaaggcc gtgatggacgacttcgcccttctgcagaagtgtgcaaggccgacgacaaaagagacatgcttcgccaaga gggcaagaaactggtggctgcttctcaggctgccctgggactgtgtgtggaacccctcggtcatggaaaacggca atatcgccaatagccagattgccgccagcagcgtcagagtgacatttctgggactgcagcactgggtgcccag

		ctggctagactgaatagagccggcatggtcaacgcctggacaccagcagcaacgacgataatccctggatcc aagtgaacctgctcggcgtatgtgggtcacaggtgtgttacacagggcgctctagactggccagccacgagt atctgaaggccttaaggtggcctacagcctgaacggccacgagttcgacttcacacgacgtgaacaagaag cacaaagagttgtcggcaactggaacaagaacgcctgcacgtgaacctgttcgagacacctgtggaagccc agtacgtcggctgtaccctacaagctgtcacaccgcctgcactctgagattcgaactgtgggatgagctga acggctgtgctaatactctgtggcctgaagaacaacagcatccccgataagcagatcaccgccagctccagctat aagacatggggcctgcacctgttcagctggaacccttctacgccagactggacaagcaggggcaacttcaatgct tgggtggccggcagctacggcaatgatcagtggtgcaagtggacctgggcagcagcaaagaagtacagggc atcatcaccagggcgccagaaattcggcagcgtgcagttgtggccagctacaaagtggcctactccaacgac agcgccaactggaccgagtagcaggtacctaagaaccggcagctccaagatctccccggcaattgggacaacc acagccacaagaagaatctgttcgaaaccctatcctggccagatatgtgcggattctgcccgtggcctggcaca acagaattgccctgagactggaactgctcggctgt
62	Ligador (G ₂ S) ₄	GGSGSGSGSGS
63	Ligador (GS) ₄	GS
64	Ligador G ₄ S	GGGS
65	Ligador (G ₄ S) ₂	GGGSGGGGS
66	EGS His- etiqueta	GSHHHHHH
67	His-etiqueta	HHHHHH
68	MFG-E8 Murino	MQVSRVLAALCGMLLCASGLFAASGDFCDSSLCLNGGTCLTGQDNDIYCLCPEG FTGLVCNETERGPCSPNPCYNDACLVTLDTRQGDIFTEYICQCPVGYSGIHCET ETNYYNLDGEYMFTTAVPNTAVPTPAPTDLNNLASRCSTQLGMEGGAIADSQ ISASSVYMGFMGLQRWGPPEARLYRTGIVNAWTASNYDSKPWIQVNLRRKMRV SGVMTQGASRAGRAEYLKTFKVAYS LDGRKFEFIQDESGGDKFLGNLDNNSLK VNMFNPTLEAQYIKLYPVSCHRGCTLRFELLGCELHGCSEPLGLKNNTIPDSQMS ASSSYKTWNLRAGFWYPHLGRLDNQGKINAWTAQNSNAKEWLQVDLGTQRQV TGIIQTGARDFGHIQYVASYKVAHSDDGVQWTVYEEQGSSKVFQGNLDNNSHK KNIFEKPFMARYVRVLPVSWHNRLRLELLGC
69	FP1776	DICDPNPCENGIGICLPGLADGSFSCECPDGFTDPNCSSVVEVASDEEEPTSGAP CTPNPCHNGGTCEISEAYRGDTFIGYVCKCPRGFNGIHCQHNINECEVEPCKNG GICTDLVANYSCECPGEFMGRNCQYKDAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLIIFA QYLQQSPFEDHVKLNVNEVTEFAKTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRE TYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFL KKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTCCQAADKAACLLPKLDEL RDEGK ASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVDTLTKVHTE CCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMP ADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLRLAKTYE TTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLV RYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSE KERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCF AEEG KKLVACSGPLGIEGGIISNQQTASSTHRALFGLQKWYPYARLNKKGLINAWTAA ENDRWPWIQINLQRKMRVTGVITQGAKRIGSPEYIKSYKIAYSNDGKTWAMYKVK GTNEDMVFRGNIDNNTPYANSFTPIKAQYVRLYPQVCRRHCTLRMELLGCELS GCSEPLGMKSGHIQDYQITASSIFRTLNDMFTWEPRKARLDKQGVNAWTS HNDQSQWLQVDLLVPTKVTGIIQTGAKDFGHVQFVGSYKLAYSNDGEHWTVYQ DEKQRKDKVFQGNFNDTHRKNVIDPPIYARHIRILPWSWYGRITLRSELLGC
70	FP1068	DICDPNPCENGIGICLPGLADGSFSCECPDGFTDPNCSSVVEVASDEEEPTSGAP CTPNPCHNGGTCEISEAYRGDTFIGYVCKCPRGFNGIHCQHNINECEVEPCKNG GICTDLVANYSCECPGEFMGRNCQYKDAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLIIFA

		QYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCCKSLHTLFGDKLCTVATLRE TYGEMADCCAKQEPERNECFQHKDDNPPLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFL KKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAAACLLPKLDELDEGK ASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKEVHTE CCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMP ADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLRLAKTYE TTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLV RYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSE KERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFEPEG KKLVAASQAALCSGPLGIEGGIISNQITASSTHRALFGLQKWYPYARLNKKGLI NAWTAAENDRWPWIQINLQRKMRVTGVITQGAKRIGSPEYIKSYKIAYSNDGKT WAMYKVKGTNEDMVFRGNIDNNTPYANSFTPIKAQYVRLYPQVCRRHCTLRM ELLGCELSGCSEPLGMKSGHIQDYQITASSIFRTLNMDFMFTWEPRKARLDKQGG VNAWTSQHNDQSQWLQVDLLVPTKVITGIIQGAQDFGHVQFVGSYKLAYSNDG EHWTVYQDEKQRKDKVFQGNFNDNTHRKNVIDPPIYARHIRLPWSWYGRITLRS ELLGC
71 =133	FP1777	DICDPNPCENGGICLPLADGFSCECPDGFTDPNCSSVVEVASDEEEPTSGAP CTPNPCHNGGTCEISEAYRGDTFIGYVCKCPRGFNGIHCQHNINECEVEPCKNG GICTDLVANYSCECPGEFMGRNCQYKDAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFA QYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCCKSLHTLFGDKLCTVATLRE TYGEMADCCAKQEPERNECFQHKDDNPPLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFL KKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAAACLLPKLDELDEGK ASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKEVHTE CCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMP ADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLRLAKTYE TTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLV RYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSE KERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFEPEG KKLVAACSGPLGIEGGIISNQITASSTHRALFGLQKWYPYARLNKKGLINAWTAA ENDRWPWIQINLQRKMRVTGVITQGAKRIGSPEYIKSYKIAYSNDGKTWAMYKVK GTNEDMVFRGNIDNNTPYANSFTPIKAQYVRLYPQVCRRHCTLRMELLGCELS G
72	FP1069	DICDPNPCENGGICLPLADGFSCECPDGFTDPNCSSVVEVASDEEEPTSGAP CTPNPCHNGGTCEISEAYRGDTFIGYVCKCPRGFNGIHCQHNINECEVEPCKNG GICTDLVANYSCECPGEFMGRNCQYKDAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFA QYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCCKSLHTLFGDKLCTVATLRE TYGEMADCCAKQEPERNECFQHKDDNPPLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFL KKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAAACLLPKLDELDEGK ASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKEVHTE CCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMP ADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLRLAKTYE TTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLV RYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSE KERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFEPEG KKLVAASQAALCSGPLGIEGGIISNQITASSTHRALFGLQKWYPYARLNKKGLI NAWTAAENDRWPWIQINLQRKMRVTGVITQGAKRIGSPEYIKSYKIAYSNDGKT WAMYKVKGTNEDMVFRGNIDNNTPYANSFTPIKAQYVRLYPQVCRRHCTLRM

		ELLGCELSG
73 =121	FP261	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVGRDVFPSTCTCLKGYAGNHCETKDAHKSEVA HRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKKDDNPPLRLVR PEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFECCQAA DKAACLLPKLDELREDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKA EFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADD RADLAKYICENQDSISSKLKECCEK PLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYAR RHPDYSVVLRLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQN CELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKR MPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVP KEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV EKCKADDKETCFAEEGKKLVACVEPLGMENGNIANSQIAASSVRVTFLGLQHW VPELARLNRAGMVNAWTPSSNDDNPWIQVNLLRRMWVTGVVTQGASRLASHE YLKAFKVAYS LINGHEFDFIHDVNKKHKEFVGNWNKNAVHVNLFETPVEAQYVRL YPTSCHTACTLRFELLGCELNG
74 =119	FP262	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVGRDVFPSTCTCLKGYAGNHCETKDAHKSEVA HRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKKDDNPPLRLVR PEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFECCQAA DKAACLLPKLDELREDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKA EFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADD RADLAKYICENQDSISSKLKECCEK PLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYAR RHPDYSVVLRLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQN CELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKR MPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVP KEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV EKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALCVEPLGMENGNIANSQIAASSVRVTFL GLQHWVPELARLNRAGMVNAWTPSSNDDNPWIQVNLLRRMWVTGVVTQGASR LASHEY LKAFKVAYS LINGHEFDFIHDVNKKHKEFVGNWNKNAVHVNLFETPVEA QYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCELNG
75	MFG-E8 de longitud completa [L76M]	MPRPRLLAALCGALLCAPSLLVALDICSKNPCHNGGLCEEISQEVGRDVFPSTCT CLKGYAGNHCETKVEPLGMENGNIANSQIAASSVRVTFLGLQHWVPELARLN RAGMVNAWTPSSNDDNPWIQVNLLRRMWVTGVVTQGASRLASHEY LKAFKVA YSLNGHEFDFIHDVNKKHKEFVGNWNKNAVHVNLFETPVEAQYVRLYPTSCHT ACTLRFELLGCELNGCANPLGLKNNSIPDKQITASSSYKTWGLHLFSWNPSYARLD KQGNFNAWVAGSYGNDQWLQVDLGSSKEVTGIITQGARNFGSVQFVASYKVAY SND SANWTEYQDPRTGSSKIFPGNWDNHSKKNLFETPILARYVRILPVAWHNR IALRLELLGC
76	Dominio de unión a PS MFG-E8 con [L76M]	CVEPLGMENGNIANSQIAASSVRVTFLGLQHWVPELARLNRAGMVNAWTPSSN DDNPWIQVNLLRRMWVTGVVTQGASRLASHEY LKAFKVAYS LINGHEFDFIHDVN KKHKEFVGNWNKNAVHVNLFETPVEAQYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCELNGC ANPLGLKNNSIPDKQITASSSYKTWGLHLFSWNPSYARLDKQGNFNAWVAGSY GNDQWLQVDLGSSKEVTGIITQGARNFGSVQFVASYKVAYSND SANWTEYQDP RTGSSKIFPGNWDNHSKKNLFETPILARYVRILPVAWHNR IALRLELLGC
77	Dominio de unión a EGF EDIL-3 (Dominios similares a EGF)	DICDPNPCENGGICLPGLADGSFSCECPDGFTDPNCSSVVEVASDEEEPTSAGP CTPNPCHNGGTCEISEAYRGDTFIGYVCKCPRGFNGIHCQHNINECEVEPCKNG GICTDLVANYSCECPGEFMGRNCQYK

	1-2-3)	
96	Dominio de unión a EGF EDIL-3 (Dominio similar a EGF 1)	DICDPNPCENGGICLPGLADGSFSCECPDGFTDPNCSSVVEVASDEEEPT
97	Dominio de unión a EGF EDIL-3 (Dominio similar a EGF 2)	SAGPCTPNPCHNGGTCEISEAYRGDTFIGYVCKCPRGFNGIHCQH
98	Dominio de unión a EGF EDIL-3 (Dominio similar a EGF 3)	NINECEVEPCKNGGICTDLVANYSCECPGEFMGRNCQYK
99	Dominio de unión a EGF EDIL-3 (Dominios similares a EGF 1 y 2)	DICDPNPCENGGICLPGLADGSFSCECPDGFTDPNCSSVVEVASDEEEPTSAGPCTPNPCHNGGTCEISEAYRGDTFIGYVCKCPRGFNGIHCQH
100	Dominio de unión a EGF EDIL-3 (Dominio similar a EGF 2 y 3)	SAGPCTPNPCHNGGTCEISEAYRGDTFIGYVCKCPRGFNGIHCQHNINECEVEPCKNGGICTDLVANYSCECPGEFMGRNCQYK
101	Dominio de unión a EGF EDIL-3 (Dominio similar a EGF 1 y 3)	DICDPNPCENGGICLPGLADGSFSCECPDGFTDPNCSSVVEVASDEEEPTNINECEVEPCKNGGICTDLVANYSCECPGEFMGRNCQYK
78	Dominio de unión a PS EDIL-3	CSGPLGIEGGIISNQITASSTHRALFGLQKWYPYARLNKKGLINAWTAAENDRWPWIIQINLQRKMRVTGVITQGAKRIGSPEYIKSYKIAYSNDGKTWAMYKVKGNE DMVFRGNIDNNTPYANSFTPIKAQYVRLYPQVCRRHCTLRMELLGCELSGCSE PLGMKSGHIQDYQITASSIFRTLNDMFTWEPRKARLDKQGVNAWTS GHNDQ SQWLQVDLLVPTKVTGIITQGAKDFGHVQFVGSYKLAYSNDGEHWT VYQDEKQ RKDKVFQGNFDNDTHRKNVIDPPIYARHIRILPWSWYGRITLRSELLGCTEEE
79	Dominio de unión a PS EDIL-3 TEEE truncado	CSGPLGIEGGIISNQITASSTHRALFGLQKWYPYARLNKKGLINAWTAAENDRWPWIIQINLQRKMRVTGVITQGAKRIGSPEYIKSYKIAYSNDGKTWAMYKVKGNE DMVFRGNIDNNTPYANSFTPIKAQYVRLYPQVCRRHCTLRMELLGCELSGCSE PLGMKSGHIQDYQITASSIFRTLNDMFTWEPRKARLDKQGVNAWTS GHNDQ SQWLQVDLLVPTKVTGIITQGAKDFGHVQFVGSYKLAYSNDGEHWT VYQDEKQ RKDKVFQGNFDNDTHRKNVIDPPIYARHIRILPWSWYGRITLRSELLGC
80	Dominio similar a EGF 1-2-3 [EDIL3]_HSA[A626-L633]eliminado_C1_C2[MFG-	DICDPNPCENGGICLPGLADGSFSCECPDGFTDPNCSSVVEVASDEEEPTSAGPCTPNPCHNGGTCEISEAYRGDTFIGYVCKCPRGFNGIHCQHNINECEVEPCKNGGICTDLVANYSCECPGEFMGRNCQYKDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFA QYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENC DKSLHTLFGDKLCTVATLRE TYGEMADCCAKQEPERNECF LQH KDDNP NL PRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFL KKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFT ECCQAADKAAACLLPKLDEL RDEGK ASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTE CCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMP

	E8] Non-M 3163	ADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVLRLAKTYE TTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCSELFQ LGEYKFQNALLV RYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSE KERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEG KKLVACVEPLGMENGNIANSQIAASSVRVTFLGLQHWVPELARLNRAGMVNAWT PSSNDDNPWIQVNLLRRMWVTGVVTQGASRLASHEY LKAFKVAYS LINGHEFDI HDVNKKHKEFVGNWNKNAVHVNLFETPVEAQYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCE LNGCANPLGLKNN SIPDKQITASSSYKTWGLHLFSWNPSYARLDKQGNFNAWVA GSYGNDQWLQVDLGSSKEVTGIITQGARNFGSVQFVASYKVAYSND SANWTEY QDPRTGSSKIFPGNWDNHSHKKNLFETPILARYVRILPVAWHNR IALRLELLGC
102	Dominio similar a EGF 1[EDIL3]_HSA[A626- L633]eliminado_ C1_C2[MFG- E8]	DICDPNPCENG GICLPGLADGSFSCPCPDGFTDPNCSSVVEVASDEEEPTDAH K SEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESA ENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQH KDDNP NL PRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAA FTE CCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLS QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADD RADLAKYICENQDSISSKL KECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGM FLY EYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEP QNLIKQNCSELFQ LGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCC KHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALE VDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVM DDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVACVEPLGMENGNIANSQIAASSVRVT FLGLQHWVPELARLNRAGMVNAWTPSSNDDNPWIQVNLLRRMWVTGVVTQGA SRLASHEY LKAFKVAYS LINGHEFDIHDVNKKHKEFVGNWNKNAVHVNLFETPV EAQYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCELNGCANPLGLKNN SIPDKQITASSSYKTW GLHLFSWNPSYARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQVDLGSSKEVTGIITQGAR NFGSVQFVASYKVAYSND SANWTEYQDPRTGSSKIFPGNWDNHSHKKNLFETPI LARYVRILPVAWHNR IALRLELLGC
103	Dominio similar a EGF 2[EDIL3]_HSA[A626- L633]eliminado_ C1_C2[MFG- E8]	SAGPCTPNPCHNGGTCEISEAYRGDTFIGYVCKCPRGFNGIHCQHDAHKSEVAH RFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDK SLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQH KDDNP NL PRLVRP EVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAA FTECCQAAD KAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAE FAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADD RADLAKYICENQDSISSKLKECCEKP LLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYAR RHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQ N CELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKR MPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVP KEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV EKCKKADDKETCFAEEGKKLVACVEPLGMENGNIANSQIAASSVRVTFLGLQHW VPELARLNRAGMVNAWTPSSNDDNPWIQVNLLRRMWVTGVVTQGASRLASHE YLKAFKVAYS LINGHEFDIHDVNKKHKEFVGNWNKNAVHVNLFETPVEAQYVRL YPTSCHTACTLRFELLGCELNGCANPLGLKNN SIPDKQITASSSYKTWGLHLFSW NPSYARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQVDLGSSKEVTGIITQGARNFGSVQF VASYKVAYSND SANWTEYQDPRTGSSKIFPGNWDNHSHKKNLFETPILARYVRIL PVAWHNR IALRLELLGC
104	Dominio similar a EGF 3[EDIL3]_HSA[A626- L633]eliminado_ C1_C2[MFG- E8]	NINECEVEPCKNGGICTDLVANYSCPCGFEFMGRNCQYKDAHKSEVAHRFKDL GEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTL FGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQH KDDNP NL PRLVRPEVDV MCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAA FTECCQAADKAAC LLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADD RADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEK SHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPD

	E8]	YSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCSELF QLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCA EDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFN AETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKC CKADDKETCFAEEGKKLVACVEPLGMENGNIANSQIAASSVRVTFGLQHWVPE LARLNRAGMVNAWTPSSNDDNPWIQVNLRRMWVTGVVTQGASRLASHEYLK AFKVAYSLNGHEFDHFDVNNKKHKEFVGNWNKNNAVHVNLFETPVEAQYVRLYPT SCHTACTLRFELLGCELNGCANPLGLKNN SIPDKQITASSSYKTWGLHLFSWNPS YARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQVDLGSSKEVTGIITQGARNFGSVQFVAS YKVAYSND SANWTEYQDPRTGSSKIFPGNWDNHSKKNL FETPILARYVRILPVA WHNRIALRLELLGC
105	Dominio similar a EGF 1– 2[EDIL3]_HSA[A626– L633]eliminado_ C1_C2[MFG– E8]	DICDPNPCENGGICLPGLADGSFSCECPDGFTDPNCSSVVEVASDEEEPTSAGP CTPNPCHNGGTCEISEAYRGDTFIGYVCKCPRGFNGIHCQHDAHKSEVAHRFKD LGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NL PRLVRPEVD VMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAA CLLPKLDEL RD EGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAE VSKLVTDLT KV HTECCHGDLLECADD RADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLE KSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHP DYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCCEL FEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPC AEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEF NAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEK CCKADDKETCFAEEGKKLVACVEPLGMENGNIANSQIAASSVRVTFGLQHWVP ELARLNRAGMVNAWTPSSNDDNPWIQVNLRRMWVTGVVTQGASRLASHEYL KAFKVAYSLNGHEFDHFDVNNKKHKEFVGNWNKNNAVHVNLFETPVEAQYVRLYP TSCHTACTLRFELLGCELNGCANPLGLKNN SIPDKQITASSSYKTWGLHLFSWNP SYARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQVDLGSSKEVTGIITQGARNFGSVQFVA SYKVAYSND SANWTEYQDPRTGSSKIFPGNWDNHSKKNL FETPILARYVRILPV AWHNRIALRLELLGC
106	Dominio similar a EGF 2– 3[EDIL3]_HSA[A626– L633]eliminado_ C1_C2[MFG– E8]	SAGPCTPNPCHNGGTCEISEAYRGDTFIGYVCKCPRGFNGIHCQH NINECEVEP CKNGGICTDLVANYSCCEPGEF MGRNCQYKDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALV LIAFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVA TLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NL PRLVRPEVDVMCTAFHDNE ETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAA CLLPKLDEL RD EGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KV HTECCHGDLLECADD RADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVEND EMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVLLLLRLA KTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCSELF EQLGEYKFQN ALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQL CVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADIC TLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFA EEGKKLVACVEPLGMENGNIANSQIAASSVRVTFGLQHWVPELARLNRAGMVN AWTPSSNDDNPWIQVNLRRMWVTGVVTQGASRLASHEYLKAFKVAYSLNGHE FDHFDVNNKKHKEFVGNWNKNNAVHVNLFETPVEAQYVRLYPTSCHTACTLRFEL LGCELNGCANPLGLKNN SIPDKQITASSSYKTWGLHLFSWNPSYARLDKQGNFN AWVAGSYGNDQWLQVDLGSSKEVTGIITQGARNFGSVQFVAS YKVAYSND SAN WTEYQDPRTGSSKIFPGNWDNHSKKNL FETPILARYVRILPVAWHNRIALRLEL LGC
107	Dominio similar a EGF 1– 3[EDIL3]_HSA[A626–	DICDPNPCENGGICLPGLADGSFSCECPDGFTDPNCSSVVEVASDEEEPTNINE CEVEPCKNGGICTDLVANYSCCEPGEF MGRNCQYKDAHKSEVAHRFKDLGEEN FKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDK LCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NL PRLVRPEVDVMCTA FHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAA CLLPKL

	L633]eliminado_ C1_C2[MFG- E8]	DELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVT DLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECKEPILLEKSHCIAE VENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEY KFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSV VLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFH ADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKE TCFAEEGKKLVACVEPLGMENGNANSQIAASSVRVTFGLQLQHWVPELARLNRA GMVNAWTPSSNDDNPWIQVNLRRMWVTGVVTQGASRLASHEYLKAFKVAYS NGHEFDFIHDVNNKKHKEFVGNWNKNVHVNLFETPVEAQYVRLYPTSCHTACTL RFELLGCELNGCANPLGLKNNIPDKQITASSYKTWGLHLFSWNPSYARLDKQ GNFNAWVAGSYGNDQWLQVDLGSSEKVTGIITQGARNFGSVQFVASYKVAYS DSANWTEYQDPRTGSSKIFPGNWDNHSKKNLFETPILARYVRILPVAWHNRAL RLELLGC
81	Ácido nucleico de SEQ ID NO: 80	gacatctgcgaccccaatccttgcgagaatggcgccatttgtctgctggactggccgatggcagcttcttctgtga atgccccgatggcttcacagaccccaattgcagctctgtgttggaagtggccagcgacgaggaagaacctaca agcgctggccctgcacacccaatcctgtcataatggcggaacctgcgagatcagcgaggcctacagaggcg ataccttcacggtacgtgtgcaagtgcggcgacgttcaatggcatccactgcagcacacaacatcaacaggt gcgaggtggaacctgcaagaacggcgcatctgtaccgacctgtgtggccaattactcttgcgagtgccctggc gagttcatggggcagaactgcagtagacaaggacgcccacagaagcgaggtggccacagattcaaggacgtg ggcgaagagaactcaaggccctggtgtgatcgcttctcgtcagtagtctccagcagagcccttcgaggaccac gtgaagctggtcaacgaagtaccgagttcggccaagacctgtgtggccgatgagagcgccgagaactgtgaca agagcctgcacacactgttcggcgacaagctgtgtaccgtggccacactgagagaaacctacggcgagatggc cgactgtgtgccaagcaagagcccgagagaaacaggtgcttctccagcacaaggatgacaaccccaacct gcctagactcgtgcggcctgaagtggatgtgtgtgcaccgcttcacgacaacgaggaaaccttctgaagaa gtacctgtacgagatcgccagacggcaccctactttatgccctgagctgtgttcttcgccaagcgggtataagg ccgcttcaccgaatgttgccaggccgctgataaggctgcctgtctgtgcctaagctggacgagctgagagatg agggcaaagccagctctgccaagcagagactgaaatgcgccagcctccagaagttcggcgagagagcttttaa ggcctggggcgttgccagactgagccagagattcctaaggccgagttgcccaggtgtccaagctcgtgaccga tctgacaaaggtgcacaccgagtgctgtcacggcgatctgtggaatgtgcccagcatagagccgacctggcca agtatatctgcgagaaccaggacagcatcagcagcaagctgaaagagtgtgcgagaagccctgttgga agtctcactgtatcgccgaagtggaaaacgacgagatgcccgcgcatctgccttctgtggtgcccgttctgtgga aagcaaggatgtgtgcaagaactacgcccagggccaaagatgtgttctgggcatgttctgtatgagtacgcccgc agacaccccgactattctgtgttctgtgtgtgcggctggccaagacatacagagacaacctggaaaaatgtgtc gcccgtgcccgatcctcacgagtggttccaaagggtgttcgacgagttcaagccactgggtggaagaaccccgaa cctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagctggcgagtagaagttccagaatgccctgtcgtgcggtg caccaagaaagtgcctcaggtgtccacacctacactggtgaggtgtccggaatctgggcaaagtgggcagca agtgttgcaagcaccctgaggccaagagaatgcctgtgcggcaggattacctgagcgtggtgtgaatcagctgt gctgtgtcacgagaaaacccctgtgtccgacagagtaccaaagtgtgtaccgagagcctcgtgaacagaag gcctgtcttagcgcctggaagtggacgagacatacgtgccaaagagttcaacgccgagacattcaccttcca cgccgatatctgcaccctgtccgagaaagagcggcagatcaagaagcagacagccctggtcagctggttaag cacaagcccaaggccaccaagaacagctgaaggccgtgatggacgacttcgccgcttctgcgagaagtgtc gcaaggccgacgacaaagagacatgcttcgcccgaagagggcaagaaactggtggcctgtgtggaacctctg gcatggaaaacggcaatatcgccaatagccagattgccgcccagcagcgtcagagtgacatttctgggactgcaa cactgggtgcccgagctggctagactgaatagacggcatggtcaacgcctggacacccagcagcaacgac gataacctctgattcaagtgaacctgtgtgcggcgtatgtgggtcacagggtgtgttacacagggcgcaagcaga ctggccttcacgagtagctgaaggcctttaaagggtgcctacagcctgaacggccacgagttcagcttcacacg acgtgaacaagaagcacaagaagtgttcggcaactggaacaagaacgcctgtgcagtgaaacctgttcgaga cacctgtggaagcccagtagctgcggctgtacctacaagctgtcacaccgctgcactctgagattcgaactgt gggatgcgagctgaacggctgtgtaacctctgggctgaagaacaacagcatccccgataagcagatcacc gccagctccagctataagacatggggcctgcacctgttcagctggaaccttctacgccagactggacaagcag ggcaactcaatgtgtgggtggcggcagctacggcaatgatcagtggtgcaagtggtatctggcagcagcaa agaagtgcagggcatcatcaccgaaggggccaagaatttcggcagcgtgcagttcgtggcagctacaaagt gcctactccaacgacagcgccaactggaccgagtagcaggacctagaaccggcagctccaagatctccccg

		gcaattgggacaaccacagccacaagaagaatctctcgagactcccatcctggccagatatgtgcggtattctgc ctgtggcctggcacaacagaatcgccctgagactggaactgctcggctgt
108	Ácido nucleico de SEQ ID NO: 102	gacatctcgaccccaacccctgcgagaaacggcgcatctgcctgcccggctggccgacggcagcttcagct gcgagtggcccgacggcttcaccgaccccaactgcagcagcgtggtggaggtggccagcgacgaggaggag cccaccgacgcccacaagagcgaggtggccaccgggtcaaggacctgggagaggaactcaaggccct ggtgctgatcgccctcgccagctacgtgcagcagagcccttcgaggaccagctgaagctggtgaacgaggtga ccgagtgcgaagacctgctggtggccgacgagagcgccgagaactgcgacaagagcctgcacacccctgttcg gcgacaagctgtgcaccgtggccaccctgctgggagacctacggcgagatggccgactgctgcgccaagcagg agcccagcggaacgagtgcttctgcagcacaaggacgacaaccccaacctgcccggctggtgctggcccg aggtggacgtgatgtgcaccgcttcacgacaacgaggagaccttctgaagaagtacgtgtacgagatcgcc cggcgccacccctacttctacgccccgagctgctgttcttcgccaagcgggtacaaggccgcttcaccgagtgct gccagggccgccaagggcgcctgctgctgcccagctggacgagctgctgggacgagggcaaggccag cagcgccaagcagcggtgaagtgcgccagcctgcagaagttcggcgagcgggcttaaggcctgggcccgt ggcccggtgagccagcggttcccaaggccgaggttcgaggtgagcaagctggtgaccgacctgacca ggtgcacaccgagtgctgccacggcgacctgctggagtgccgacgaccgggcccagctggccaagtacat ctgcgagaaccaggacagcatcagcagcaagctgaaggagtgctgcgagaagcccctgctggagaagagcc actgcatcgccgaggtggagaacgacgagatgcccgcgacctgcccagcctggccgagcttcgtggaga gcaaggacgtgtgcaagaactacgcccaggccaaaggacgtgttctgggcatgttctgtacgagtacgcccgg cgccaccccgactacagcgtggtgctgctgctgctgctggccaagacctacgagaccacccctggagagtgct gcccgcgcccgcgacccccagagtgctacgccaaggtgttcgacgagttcaagcccctggtggaggagcccca gaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagctgggagagttacaagttccagaacgcccctgctggtgc ggtacaccaagaagggtgcccaggtgagcaccacccctggtggaggtgagccggaacctgggcaagggtg ggcagcaagtgtgcaagcaccgagggccaagcggatgccctgcgcccaggactacctgagcgtggtgctg aaccagctgtgctgctgcagcagaagacccccgtgagcgaccgggtgaccaagtgtgcaccgagagcctg gtgaaccggcgccctgcttcagcgccctggaggtggacgagacctacgtgccaaggagttcaacgcccaga ccttcacctccacgcccagatctgcacctgagcgagaaggagcgccagatcaagaagcagaccgcccgtgt ggagctggtgaagcacaagccaaggccaccaaggagcagctgaaggccgtgatggacgacttcgcccctt cgtggagaagtgtgcaaggccgacgacaaggagacctgcttcgcccaggaggggaagaagctggtggcct gctggagcccctgggcatggagaacggcaacatcgccaacagccagatcgccgcccagcagcgtgcgggtg accttctgggctgcagcactgggtgccgagctggcccggctgaaccggggccgcatggtgaacgctgga ccccagcagcaacgacgacaacccctggatccaggtgaacctgctgcggcggtatgtgggtgaccggcggtgt gaccagggcgccagccggctggccagccacgagctacgtgaaggcctcaagggtggcctacagcctgaacgg ccacgagttcgacttcatccacgacgtgaacaagaagcacaaggagttcgtgggcaactggaacaagaacgc cgtgcacgtgaacctgttcgagacccccgtggaggccagctacgtgcggctgtaccccaccagctgccacaccg cctgcacctgctggttcgagctgctgggtgcgagctgaacggctgcgccaacccctgggctgaagaaca cagcatccccgacaagcagatcaccgcccagcagcagctacaagacctggggcctgcacctgttcagctggaa ccccagctacgcccggctggacaagcaggggaactcaacgctgggtggccgagctacgggaacgacc agtggctgcaggtggacctgggcagcagcaaggaggtgaccggcatcatcaccagggcgcccgaacttcg gcagcgtgcagttcgtggccagctacaaggtggcctacagcaacgacagcgccaactggaccgagctaccagg acccccggaccggcagcagcaagatcttccccggcaactgggacaaccacagccacaagaagaacctgttc gagacccccatcctggcccggtacgtgcggtatcctgcccgtggcctggcacaaccggatcgccctgcccgtgga gctgctgggctgc
109	Ácido nucleico de SEQ ID NO: 103	agcgccggcccctgcaccccaacccctgccacaacggcgccacctgagatcagcagggcctaccgggg cgacaccttcacggctacgtgtgcaagtgcggcggttcaacggcatccactgccagcagcagccaca agagcgaggtggcccaccgggtcaaggacctgggagaggaactcaaggccctggtgctgatcgcccttcgc ccagctacgtgcagcagagccccttcgaggaccagctgaagctggtgaacgaggtgaccgagttcgccaagacc tgctggtggcgacgagagcgccgagaactgcgacaagagcctgcacacctgttcggcgacaagctgtgcacc gtggccacctgctgggagacctacggcgagatggccgactgctgcgccaagcaggagcccagcggaacga gtgcttctgcagcacaaggacgacaaccccaacctgccccggctggtgctggcccaggtggacgtgatgtgc accgcttcacgacaacgaggagaccttctgaagaagtacgtgtacgagatcgccggcgccacccctactt ctacgccccgagctgctgttcttcgccaagcgggtacaaggccgcttcaccgagtgctgacaggccgcccaca aggccgctgctgctgccaagctggacgagctgcgggacgaggggaaggccagcagcgccaagcagcg gctgaagtgcgccagcctgcagaagttcggcgagcgggcttcaaggcctgggcccgtggcccggctgagccag

		cggttccccaaggccgagttcgccgaggtgagcaagctggtgaccgacctgaccaaggtgcacaccgagtgct gccacggcgacctgctggagtgccgacgaccgggcccacctggccaagtacatctgcgagaaccaggac agcatcagcagcaagctgaaggagtgctgcgagaagcccctgctggagaagagccactgcatcgccgaggtg gagaacgacgagatgcccgccgacctgcccagcctggccgcccacttcgtggagagcaaggacgtgtgcaag aactacgccgaggccaaggacgtgttctgggcatgttctgtacgagtagcggccggcgccaccccgactacag cgtggtgctgctgctgctgctggccaagacctacgagaccacctggagaagtgctgctgcccggccgacccc cacgagtgctacgccaaggtgttcgacgagttcaagcccctggtggaggagccccagaaacctgatcaagcaga actgagagctgttcgagcagctggcgagtagaagttccagaacgcccctgctggtgctggttacaccaagaagtg ccccaggtgagcacccccacctggtggaggtgagccggaacctgggcaaggtgggagcaagtgctgcaa gcaccccgaggccaagcggtatgccctgcccggaggactacctgagcgtggtgctgaaccagctgtgctgctg cacgagaagacccccctgagcgaccgggtgaccaagtgtgcaccgagagcctggtgaaccggcgccctg cttcagcgccctggaggtggacgagacctacgtgccaaggagttcaacgccgagaccttcaccttcacggccg acatctgcacctgagcgagaaggagcgccagatcaagaagcagaccgcccctggtggagctggtgaagcac aagccaaggccaccaaggagcagctgaaggccgtgatggacgacttcgccccttcgtggagaagtgctgc aaggccgacgacaaggagacctgcttcgcccaggaggggcaagaagctggtggcctgctgagacccctggg catggagaacggcaacatcgccaacagccagatcgccgcccagcagcgtgctgggtgaccttcctgggctgca gcaactgggtgcccagctggccggctgaaccgggcccggcatggtgaacgctggacccccagcagcaacg acgacaaccccctggatccaggtgaacctgctgcggcgatggtggtgaccgctggtgagccagggcgcca gccgctggtggcagccagctacgtgaaggccttcaaggtggcctacagctgaagccacaggttcgacttc atccacgacgtgaacaagaagcacaaggagttcgtgggcaacctggaacaagaacgcccgtgcacgtgaacctg ttcgagacccccctggaggccagtagctgcggtgtacctccaccagctgccacaccgctgcacctgcggtt cgagctgctgggtgctgagctgaacggctgcgccaaccccctggcctgaagaacaacagcatccccgacaa gcagatcaccgccagcagcagctacaagacctggggcctgcacctgttcagctggaacccagctacgcccgg ctggacaagcagggaacctcaacgcctgggtggccggcagctacggcaacgaccagtggctgcaggtggac ctgggcagcagcaaggaggtgaccggcatcatcaccaggggcgccggaaccttcggcagcgtgcagttctg gccagctacaaggtggcctacagcaacgacagcgccaactggaccgagtaccaggacccccggaccggca gcagcaagatctccccggcaactgggacaaccacagccacaagaagaacctgttcgagacccccatcctgg cccgtacgtgctggtacgtgcccgtggcctggcacaaccggatcgccctgcggctggagctgctgggtgctg
110	Ácido nucleico de SEQ ID NO: 104	aacatcaacgagtgcgaggtggagccctgcaagaacggcgccatctgcaccgacctggtggccaactacagc tgcgagtgccccggcgagttcatgggcccgaactgccagtacaaggacgcccacaagagcgaggtggccac cggttcaaggacctgggagggagagaacttcaaggccctggtgctgtagccttcgcccagtagctgcagcagag ccccttcgaggaccacgtgaagctggtgaacgaggtgaccgagttcgccaagacctgctggccgacgagag cgccgagaactcgacaagagcctgcacacctgttcggcgacaagctgtgcaccgtggccacctgcggga gacctacggcgagatggccgactgctgcgccaagcaggagcccagcggaacgagtgcttctgcagcaca ggacgacaaccccaacctgccccggctggtgcccggcagggtggacgtgatgtgcaccgcttcacgacaac gaggagaccttctgaagaagtacctgtacgagatcgccggcgccacccctacttctacgccccgagctgct gttcttcgccaagcgggtacaaggccgcttcaccgagtgctgccaggccgcccagacaaggccgctgctgctgc ccaagctggacgagctgcgggacgagggcaaggccagcagcgccaagcagggctgaagtgcgccagcct gcagaagttcggcgagcgggcttcaaggcctgggcccgtggccggctgagccagcgggttcccaaggccga gttcgcccaggtgagcaagctggtgaccgacctgaccaaggtgcacaccgagtgctgccacggcgacctgctg gagtgccgacgacccgggcccacctggccaagtacatctgcgagaaccaggacagcatcagcagcaagct gaaggagtgctgcgagaagcccctgctggagaagagccactgcatcgccgaggtggagaacgacgagatgc ccgcccacctgcccagcctggccgcccactgctggagagcaaggacgtgtgaagaactacgcccaggcca aggacgtgttctgggcatgttctgtacgagtagcggcgccgcccagcccgactacagcgtggtgctgctgctg gctggccaagacctacgagaccacctggagaagtgctgcgcccggccgacccccacgagtgctacgcca ggtgttcgacgagttcaagcccctggtggaggagccccagaaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagc agctgggagtagtaagttccagaacgcccctgctggtgctgctgacaccaagaaggtgccccaggtgagcacc cacctggtggaggtgagccggaacctgggcaaggtgggagcaagtgctgaagcaccgagggccaagc ggatgccctgcccggaggactacctgagcgtggtgctgaaccagctgtgctgctgcacgagaagacccccgtg agcgaccgggtgaccaagtgtgcaccgagagcctggtgaaccggcgccctgcttcagcgccctggaggtg acgagacctacgtgcccaaggagttcaacgccgagaccttcaccttcacgcccagatctgcacctgagcgag aaggagcggcagatcaagaagcagaccgcccgtggagctggtgaagcacaagccaaggccaccaagg agcagctgaaggccgtgatggacgacttcgcccgttcgtggagaagtgctgcaaggccgacgacaaggaga

		cctgcttcgccgaggagggcaagaagctggtggcctgctggagcccctgggcatggagaacggcaacatcg ccaacagccagatcgccgccagcagcgtgcggtgaccttctggcctgcagcactgggtgccgagctggc ccggctgaaccgggcccggcatggtgaacgcctggacccccagcagcaacgacgacaaccctggatccagg tgaacctgctgcggcgatgtgggtgaccggcgtggtgaccagggcgccagccggctggccagccacgagt acctaaggcctcaaggtggcctacagcctgaacggccacgagttcgaactcatccacgacgtgaacaagaa gcacaaggagttcgtgggcaactggaacaagaacgcctgacgtgaacgtgtcagacccccgtggaggc ccagtacgtgctggtgtacccaccagctgccacaccgcctgcaccctgctgagctgctgggtgctgagct gaacggctgctgccaacccccctggcctgaagaacaacagcatccccgacaagcagatcaccgccagcagca gctacaagacctggggcctgcacgtgtcagctggaaccccagctacgcccggctggacaagcaggggaactt caacgcctgggtggccggcagctacggcaacgaccagtggtgcaggtggacctgggcagcagcaaggagg tgaccggcatcatcaccaggggcgccggaaacttcggcagcgtgcagttcgtggccagctacaaggtggcctac agcaacgacagcgccaactggaccgagtagcagacccccggaccggcagcagcaagatctccccggca actgggacaaccacagccacaagaagaacgttgcagacccccatcctggcccggtacgtgcggtatctgccc cgtggcctggcacaaccggatcgccctgctgggtgagctgctgggtgc
111	Ácido nucleico de SEQ ID NO: 105	gacatctgcgaccccaacccctgctgagaacggcggtcatctgcctgcccggcctggccgacggcagcttcagct gagtggtgcccgcagggcttcaccgaccccaactgcagcagcgtggtggaggtggccagcagcagggaggag cccaccagcgccggcccctgcaccccaacccctgccacaacggcgccacctgcgagatcagcagggccta ccggggcgacacctcatcgctacgtgtgcaagtgcctgggggttcaacggcatccactgccagcagcagc cccacaagagcaggtggccaccgggtcaaggacctgggagaggagaacttcaaggccctggtgctgatcg ccttcgccagctgcagcagagcccttcgaggaccacgtgaagctggtgaacgaggtgaccgagttcgcc aagacctgctggccgacgagagcgccgagaactgcgacaagagcctgcacacctgttcggcgacaagctg tgaccgtggccaccctgcgggagacctacggcgagatggccgactgctgcgccaagcaggagcccagcgcg gaacgagtgcttctgcagcacaaggacgacaaccccaacctgcccggctggtgcccggcaggtggacgt gatgtgcaccgccttcacgacaacgaggagaccttctgaagaagtacgtgtacgagatcgcccggcgccac cctacttctacgccccgagctgctgttcttcgaagcggtacaaggccgcttcaccgagtgctgccaggccg ccgacaaggccgctgctgtgcccgaagctggacgagctgcgggacgagggaaggccagcagcgccaa gcagcggtgaagtgcgccagctgcagaagtgcggcagcggccttcaaggcctggccgtggccggctg agccagcggttcccaaggccgagttcgccgaggtgagcaagctggtgaccgacctgaccaaggtgcacacc gagtgctgcacggcgacctgctggagtgccgacgacggggccgacctggccaagtagatctgcgagaac caggacagcatcagcagcaagctgaaggagtgctgcgagaagccccctgctggagaagagccactgcagc cgaggtggagaacgacgagatgcccgcgacctgcccagcctggccgacttcgtggagagcaaggacgt gtgcaagaactacgcccaggccaaaggacgtgttctgggcatgttctgtacgagtagcggcgccggcaccg actacagcgtggtgctgctgctgctggcgaagacctacgagaccacctggagaagtgtgcgcccggc cgacccccacgagtgctacgccaagggtgttcgacgagttcaagccccctggtggaggagcccagaacctgatc aagcagaactgcgagctgttcgagcagctgggcgagtacaagtccagaacgccctgctggtgctgacacca agaaggtgccccaggtgagcacccccacctggtggaggtgagccggaacctgggcaaggtgggcagcaag tgctgaagcaccgagggccaagcgatgcctgcgagcagactacgtgagcgtggtgtaaccagctgt gctgctgcacgagaagacccccgtgagcgaccgggtgaccaagtgtgcaccgagagcctggtgaaccggc ggcctgctcagcgccctggaggtggacgagacctacgtgccaaggagttcaacgcccagaccttcaccttc cacgcccagatctgcacctgagcgagaaggagcgccagatcaagaagcagaccgcccgtggtggagctggt gaagcacaagcccaaggccaccaaggagcagctgaaggccgtgatggacacttcgcccgttcgtggaga agtgtgcaaggccgacgacaaggagacctgttcgcccagaggagggaagaagctggtggcctgctgaggc ccctgggcatggagaacggcaacatcgccaacagccagatcgccgccagcagcgtgctgggtgaccttctgg gctgacgactgggtgcccagctgcccggctgaaccggcgccgcatggtgaacgcctggacccccagca gcaacgacgacaacccctggatccaggtgaacctgctgcggcgagtggtgacctggctgacctcagg gcccagcgggctggccagccacgagtagctgaaggccttcaaggtggcctacagcctgaacggccacgagtt cgacttcatccacgacgtgaacaagaagcacaaggagttcgtgggcaactggaacaagaacgccgtgcagct gaacctgttcgagacccccgtggaggcccagtagctgctggtgtacccaccagctgccacaccgctgcacc ctgctggttcgagctgctgggtgctgagctgaacggctgcgccaacccccctggcctgaagaacaacagcatcc ccgacaagcagatcaccgccagcagcagctacaagacctggggcctgcacctgttcagctggaacccagctc acgcccggctggacaagcagggcaacttaacgcctgggtggccggcagctacggcaacgaccagtggtgc aggtggacctgggcagcagcaaggaggtgaccggcatcatcaccagggcgcccggaacttcggcagcgtg cagttcgtggccagctacaaggtggcctacagcaacgacagcgccaactggaccgagtagcagggacccccgg

		accggcagcagcaagatctccccggcaactgggacaaccacagccacaagaagaacctgttcgagacccc catcctggcccggtacgtgcggtacgtgcccgtggcctggcacaaccggatcgccctgcggtggagctgctgg gctgc
112	Ácido nucleico de SEQ ID NO: 106	agcgccggcccctgcaccccaaccctgccacaacggcgccacctgcgagatcagcgaggcctaccgggg cgacacctcatcggtacgtgtgcaagtgcggcggttcaacggcatccactgccagcacaacatcaacg agtgcgaggtggagccctgcaagaacggcggtatctgcaccgacctggtggccaactacagctcgagtgccc cggcgagttcatggcggaactgccagtacaaggacgcccacaagagcgaggtggccaccgggtcaagg acctgggcgaggagaactcaaggccctggtgctgacgccttcgccagtacctgcagcagagccccttcgag gaccacgtgaagctggtgaacgaggtgaccgagttcgccaagacctgcgtggccgacgagagcgccgagaa ctgcgacaagagcctgcacacctgttcggcgacaagctgtgcaccgtggccacctgcgggagacctacggc gagatggccgactgctgcgccaagcaggagcccagcggaacgagtgcttctgcagcacaaggacgacaa ccccaaactgccccggctggtgcggcccgaggtggacgtgatgtgcaccgccttcacgacaacgaggagacc ttctgaagaagtacctgtacgagatgcggcgccgacccctacttctacgccccgagctgctgttctcgcaa gcggtacaaggccgcttcaccgagtgctgcaggccgcccagacaaggccgctgctgctgccaagctggac gagtgccgggacgagggcaaggccagcagcgccaagcagcggtgaagtgcgccagcctgcagaagttcg gagagcgggcctcaaggcctgggcccgtggcccggtgagccagcggttcccaaggccgagttcgccgaggt gagcaagctggtgaccgacctgaccaaggtgcacaccgagtgctgcccagcgacctgctggagtgccgga cgaccgggcccagctggccaagtacatctgcgagaaccaggacagcatcagcagcaagctgaaggagtgct gagagaagcccctgctggagaagagccactgcacgaggtggagaacgagagatgcccggcagctg cccagcctggccgcccacttcgtggagagcaaggacgtgtgaagaactacgcccagggccaaggacgtgtcc tgggcatgttctgtacgagtagcggcgccgacccccgactacagcgtggtgctgctgctgcccgtggccaaga ctacgagaccacctggagaagtgtgcgcccggccgacccccacgagtgctacgccaaggtgttcgacga gttcaagcccctggtggaggagccccagaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagctgggagag tacaagttccagaacgcccctgctggtgcggtacaccaagaagggtgcccaggtgagcacccccacctggtg aggtgagccggaacctgggaagggtgggagcaagtgtgcaagcaccggagccaagcggtgacctg gcccaggactacctgagcgtggtgctgaaccagctgtgctgctgcagcagaagacccccgtgagcgaccgg gtgaccaagtgtgcaccgagagcctggtgaaccggcgccctgcttcagcgccctggaggtggacgagacct acgtgccaaggagttcaacgcccagaccttcaccttcacgcccagacatctgcaccctgagcgagaaggagcg gcagatcaagaagcagaccgcccgtggtgagctggtgaagcacaagcccaaggccaccaaggagcagctg aaggccgtgatggagcacttcgcccgttcgtggagaagtgtgcaaggccagcagacaaggagacgtgcttcg ccgaggagggaagaagcgtggtggcctgctgagccctgggcatggagaacggcaacatcgcaacagc cagatcgccgcccagcagcgtgcccgtgaccttcctggcctgcagcactgggtgcccagctggccgggctga accgggcccgcagtggtgaacgctggacccccagcagcaacgacgacaaccccctggatccagggtgaacctg ctgcccggatgtgggtgaccggcggtggtgaccaggggccagccggtggccagccagctacgtgaag gcctcaagggtggcctacagcctgaacggccacgagttcgacttcacgacgtgaacaagaagcacaagg agttcgtgggaactggaacaagaacgcccgtgcacgtgaacctgttcgagacccccgtggaggcccagtagct gcccgtgtacccaccagctgccacaccgctgcacctgcggttcgagctgctgggtgcgagctgaacggct gcccgaaccccctgggctgaagaacaacagcatccccgacaagcagatcaccgcccagcagcagctacaag acctggggcctgcacctgttcagctggaaccccagctacgcccggctggacaagcaggggaactcaacgcct gggtggccggcagctacggcaacgaccagtggtgcaggtggacctgggagcagcagaaggaggtgaccggc atcatcaccaggggcccggaaacttcggcagcgtgcagttcgtggccagctacaaggtggcctacagcaacg acagcgccaactggaccgagtagcaggacccccggaccggcagcagcaagatctccccggcaactggggac aaccacagccacaagaagaacctgttcgagacccccatcctggcccggtacgtgcggtacgtgcccgtggcctg gcacaaccggatcgccctgcccgtggagctgctgggctgc
113	Ácido nucleico de SEQ ID NO: 107	gacatctcgaccccaacccctgcgagaacggcggtatctgcctgcccggcctggccgacggcagcttcagct gagagtgcccgcagcggttcaccgaccccaactgcagcagcgtggtggaggtggccagcagcagggaggag cccaccaacatcaacgagtgaggtggagccctgcaagaacggcggtatctgcaccgacctggtggccaac tacagctgcgagtgccccggcgagttcatggccggaactgccagtacaaggacgccacaagagcgaggtg gcccaccggttcaaggacctgggagaggagaactcaaggccctggtgctgacgccttcgccagtagctgca gcagagccccttcgaggaccagtgaaagtgtgaacgaggtgaccgagttcgccaagacctgcgtggccga cgagagcggcagaaactgcgacaagagcctgcacacctgttcggcgacaagctgtgcaccgtggccacct gcccggagacctacggcgagatggccgactgctgcgccaagcaggagcccagcggaacgagtgcttctgc agcacaaggacgacaaccccaacctgccccggctggtgcggcccgaggtggacgtgatgtgcaccgccttc

		acgacaacgaggagaccttctgaagaagtacctgtacgagatcgcccgggcgacccctacttctacgcccc gagctgtgttctcgccaagcgggtacaaggccgcttcaccgagtgctgccaggccgcccagaaggccgctg cctgtgccaagctggacgagctgctgggacgagggcaaggccagcagcgccaagcagcgggtgaagtgc gccagcctgcagaagttcggcgagcgggcttcaaggcctgggctggcccggtgagccagcgggtcccca aggccgagttcgccgaggtgagcaagctggtgaccgacctgaccaaggtgcacaccgagtgctgcacggcg acctgtggagtgcgccgacgacggggcgacctggccaagtacatctgcgagaaccaggacagcatcagca gcaagctgaaggagtgctgcgagaagcccctgtgtgagaagagccactgcacgcccagggtgagaacgac gagatgcccggcgacctgcccagcctggccgacacttcgtggagagcaaggacgtgtgcaagaactacgcc gaggccaaggacgtgttctgggcatgttctgtacgagtagcggcgccgaccccgactacagcgtgtgtgctg ctgtgcgggtggccaagacctacgagaccacctggagaagtgtgcgcccggccgacccccacgagtgct acgccaaggtgttcgacgagttcaagcccctgtgtgaggagccccagaacctgatcaagcagaactgcgagct gttcgagcagctggcgagtagaagttccagaacgcctgtgtgtggtacaccaagaaggtgccccaggtg agcacccccacctgtgtgaggtgagccgaacctgggaaggtgggcagcaagtgctgcaagcaccgga ggccaagcggatgccctgcgcccaggactacctgagcgtgtgtgtaaccagctgtgctgtgcacgagaag accccgtgagcgaccgggtgaccaagtgtgcaccgagagcctgtgaaccggcgccctgtctcagcgccc tggaggtggacgagacctacgtgccaaggagttcaaccgagaccccttcacgtccgacatctgcacc ctgagcgagaaggagcggcagatcaagaagcagaccgcccctgtgtgagctgtgtgaagcacaaggcccaag ccaccaaggagcagctgaaggcgtgatggacgacttcgcccctctgtgtgagaagtgctcaaggccgacg acaaggagacctgttcgcccaggagggaagaagctgtgtggcctgcgtggagcccctgggcatggagaacg gcaacatcgccaacagccagatcgccgcccagcagcgtgcgggtgaccttctgggctgcagcactgggtgcc cgagctggcccggtgaaccggggccgcatggtgaacgcctggacccccagcagcaacgacgacaaccct ggatccaggtgaacctgtgcggcggtgtgtgtgaccggcgtgtgacccagggcgccagccggctggcca gccacgagtagctgaaggcctcaaggtggcctacagcctgaacggccacgagttcgaacttccacgacgtg aacaagaagcacaaggagttcgtgggaactggaacaagaacgccgtgcacgtgaacctgttcgagaccccc gtggaggcccagtagctgcggctgtacccaccagctgccacaccgctgcacccctgcggttcgagctgtggg ctgcgagctgaacggctgcgccaaccccctgggctgaagaacaacagcatccccgacaagcagatcaccgc cagcagcagctacaagacctggggcctgcacctgttcagctggaaccccgactacgcccggctggacaagca gggcaactcaacgcctgggtggccggcagctacggcaacgaccagtggtgcaggtggacctgggcagcag caaggaggtgaccggcatcatcaccagggcgcccggaacttcggcagcgtgcagttcgtggccagctacaag gtggcctacagcaacgacagcgccaactggaccgagtagcaggacccccggaccggcagcagcaagatctt ccccggcaactgggacaaccacagccacaagaagaacctgttcgagacccccatctggcccggtagctgcg gatcctgcccgtggcctggcacaaccggatgcacctgcccgtggagctgtgtgggtgc
82	EGF[MFG–E8]_HSA[A626–L633]eliminado_C1_C2[EDIL3]	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVGRGDVFPSTCTCLKGYAGNHCETKDAHKSEVA HRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPPLRLVR PEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFECCQAA DKAACLLPKLDELRLDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKA EFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEK PILLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYAR RHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQN CELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKR MPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVP KEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV EKCKADDKETCFEEGKKLVACSGPLGIEGGIISNQKITASSTHRALFGLQKWY PYYARLNKKGLINAWTAAENDRWPIQINLQRKMRVTGVITQGAKRIGSPEYIKS YKIAYSNDGKTWAMYKVKG TNEDMVFRGNIDNNTPYANSFTPIKAQYVRLYPQ VRRHCTLRMELLGCELSGCSEPLGMKSGHIQDYQITASSIFRTLNDMFTWEP RKARLDKQGKVNAWTS GHNDQSQWLQVDLLVPTKVTGIITQGA KDFGHVQFVG SYKLAYSNDGEHWT VYQDEKQRKDKVFQGNFDNDTHRKNVIDPPIYARHIRILP WSWYGRITLRSELLGC
83	Ácido nucleico de SEQ ID NO:	ctggacatctgtagcaagaacccttgccacaacggcgccctgtgcgaagagatttctaagaagtgcggggcga cgttttcccagctacacctgtacatgtctgaagggctacgcccggcaaccactgcgagacaaaggatgccaca agagcgaggtggcccacagattcaaggatctgggcgaagagaacttcaaggccctgtgtctatgccttcgct

	82	cagtatctccagcagagcccttctgaggaccacgtgaagctggtcaacgaagtgaccgagttcgccaagacctg tgtggccgatgagagcgccgagaactgtgataagagcctgcacaccctgttcggcgacaagctgtgtacagtgg ccacactgagagaaacctacggcgagatggccgactgctgtgccaagcaagagcccgagagaaacgagtg ttctccagcacaaggacgacaaccccaacctgcttagactcgtgcgaccgaagtggatgtgtatgtgcaccgc cttcacgacaacgaggaaccttctgaagaagtacctgtacgagatcgccagacggcaccctactttatgcc cctgagctgctgttctcgccaagcgggtataaggcgccttcaccgaatgttgcaggccgctgataaggctgcctg tctgtgcctaagctggacgagctgagagatgagggcaaagccagctctgccaagcagagactgaaatgcgcc agcctccagaagttcggcgagagagctttaaaggcctgggcccgttgccagactgagccagagatttctaaggcc gagtttgcgaggtgtccaagctcgtgaccgatctgacaaaggtgcacaccgagtgctgtcacggcgatctgctg gaatgtgccgacgatagagccgacctggccaagtagatctgcgagaaccaggacagcatcagcagcaagctg aaagagtgtgcgagaagcccctgctggaaaagtctactgtatcgccgaggtggaaaacgacgagatgcctg ccgatctgcctagcctggctgcccgaattcgtggaaagcaaggacgtgtgcaagaactacgccgaggccaaggat gtgttctgggcatgtttctgtatgagtacggccgacagaccccactattctgtggttctgctgctgcggctggcca aaacctacgagacaacctggaaaaatgtgcgcgctgcccgatcctcacgagtgttatgccaaggtgttcgac gagttcaagcctctggtggaagaacccagaaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagctggg agtaagaagttccagaatgcctgtctgctgcggtacaccaagaagtgcctcagggtccacacctacactggtg aggtgtccggaatctgggcaaagtgggcagcaagtgttgcaagcaccctgaggccaaagagaatccttgcgc cgaggattacctgagcgtggtgctgaatcagctgtgctgcacgagaaaacctgtgtccgacagagtgac caagtgtgtaccgagagcctctgtaacagaaggcctgtttagcgccctggaagtggacgagacatagctgc ccaaagagttcaacgccgagacattcacctccacgccgacatctgcaccctgtccgagaaagagcggcagat caagaagcagacagccctggtcagctggttaagcacaagcccaaggccaccaaaagacagctgaaggcc gtgatggacgacttcgccccttctgcgagaagtgtgcaaggccgacgacaaagagacatgcttcgccaaga gggcaagaaactggtggcctgttctggccctctgggcatcgaaggcggcatcatcagcaatcagcagatcacccg ccagcagcaccacagagcactgtttggcctgcaaaagtggatccctactacgccggctgaacaagaagg cctgattaacgcctggacagccgcccgaatgacagatggcctggattcagatcaacctccagcgggaagatg agagtgaccggcgttatcacacagggcgcaaagagaatcggtccctgagtagatcaagagctacaagatcg cctacagcaacgacggcaagacctgggcatgtacaaagtgaaggccaccaacgaggacatggtgttcggg gcaacatcgacaacaacaccttacgccaacagcttcacccctcctatcaaggcccagtagctgcggctgtac cctcaagtgtgcagaaggcactgtaccctgagaatggaactgtgggctgcgaactgtctggtgttctgagccac tgggaatgaagtccggccacatccaggactaccagattaccgctccagcatcttcagaacctgaacatggata tgttcacctgggagccccggaaggccagactggataagcagggaaaagtgaatgcctggaccagcggccaca acgaccagtctcaatggctgcaagtggacctgctggtgcctacaaagtgaccggaatcatcacccaaggcgct aaggatttcggccacgtgcagttcgtgggctcctacaagctggcctactccaatgatggcgagcactggaccgtg accaggacgagaagcagcgggaaggataaggtgttcagggaacctcgataacgatacccaccggaagaac gtgatcgaccctccaatctacgccagacacatcagaatcctgccttggtctgtgacggcagaatcacctgagat ccgagctgctgggatgc
115	EGF-C1-His6	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVGRDVFPSYTCTCLKGYAGNHCEETKCVEPLGME NGNIANSQIAASSVRVTFGLQHWVPELARNRAGMVNAWTPSSNDDNPWIQV NLLRRMWVTGVVTQGASRLASHEYLKAFKVAYSLNGHEFDIHDVNKKHKEFVG NWNKNAVHVNLFETPVEAQYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCELNGHHHHHH
116	Ácido nucleico de 115	ctggacatctgtagcaagaaccttgcacaacggcgccgtgtgcgaagagatttctaagaagtgcggggcga cgtttcccagctacacctgtacatgtctgaagggctacgccggcaacctgctgagacaaaatgtgtgaacc cctcggcctggaacacggcaatatcgccaatagccagatcgccgcagcagcgtcagagtgacatttctggga ctgcaacactgggtgccagagctggccagactgaatagagccggcatgtgtaacgcctggacacccagcagc aacgacgacaacccctggattcaagtgaacctgctgcggcgtatgtgggtcacagggtgtgttacacaggcgca agcagactggccagccagcagtagtatctgaaggccttaagggtggcctacagcctgaacggccacgagttcga catccacgacgtgaacaagaagcacaagaagtgtcgtcggaactggaacaagaacgcctgacgtgaacct gttcgagacacctgtggaagcccagtagctgcggctgtaccctacaagctgtcacaccgcctgcacactgagatt cgagctgctgggctgtgaactgaatggccaccaccacatcaccac
117 =147	EGF-HSA-C1	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVGRDVFPSYTCTCLKGYAGNHCEETKGSDAHSE VAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLNEVTEFAKTCVADESAEN CDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLRL VRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQ AADKAACLLPKLDELRLDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRF

		KAFAEVS KLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECC EKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEY ARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIK QNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEA KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETY VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFA AFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGSGSGSGSGSGSCVEPLGM ENGNIANSQIAASSVRVTFLGLQHWVPELARLN RAGMVNAWTPSSNDNPWIQ VNLLRRMWVTGVVTQGASRLASHEYLKAFKVAYSLNGHEFDIFIHDVNKKHKEFV GNWNKNAVHVNLFETPVEAQYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCELNG
118	Ácido nucleico de 117	ctggacatctgtagcaagaacccctgccacaacggcgccctgtgcgaagagatttctaagaagtgcggggcca cgttttcccagctacacctgtacatgtctgaagggctacgccggcaaccactgcgagacaaaagatctgatgc ccacaagagcgaggtggccacagattcaaggatctggcggaagagaacttcaaggccctggctgatcgcc ttcgctcagtatctccagcagagcccttcgaggaccacgtgaagctggtcaacgaagtgaccgagttcgccaag acctgtgtggccgatgagagcgccgagaactgtgataagagcctgcacaccctgtcggcgacaagctgtgtac agtggccacactgagagaaacctacggcgagatggccgactgctgtgccaagcaagagcccagagaaaacg agtgtctctccagcacaaggacgacaaccccaacctgctagactcgtgcgaccgaagtggatgtgtatgtgc accgccttcacgacaacgaggaacccctcctgaagaagtacgtgtacgagatgcgcagcggcaccctcctt tatgccctgagctgctgttcttcgccaagcgggtataaggccgcttcaccgaatgttgccaggccgctgataaggc tgctgtctgctgcttaagctggacgagctgagagatgagggcaaagccagctctgccaagcagagactgaaat gcgccagcctccagaagttcgccgagagagcttttaaggcctgggcccgttgccagactgagccagagatttcta aggccgagtttgccgaggtgtccaagctcgtgaccgatctgacaaaggtgcacaccgagtgctgtcacggcgat ctgctggaatgtgccgacgatagaccgacctggccaagtacatctgcgagaaccaggacagcatcagcagc aagctgaaagagtgctgcgagaagcccctgctggaagagctcactgtatcgccgaggttgaaaacgacgag atgctgcccgatctgctagcctggctgcccgttctgtggaagcaaggacgtgtgcaagaactacgcccagggc caaggatgtgttctgggcatgttctgtatgagtacgcccgcagacaccccactattctgtgttctgctgctg ctggccaaaacctacgagacaaccttggaataatgctgcgcccgtgcccgtcctcagagtggtatgccaaggt gttcgacgagttcaagcctctggtggaagaaccccagaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagc tggcgagtagaagttccagaatgcctgctcgtgcggtacaccaagaaagtgctcaggtgtccacacctacac tggttgaggtgtcccgaatctgggcaaagtgggcagcaaggtgtgcaagaccctgaggccaagagaatgcct tgcgcccaggattacctgagcgtggtgctgaatcagctgtgctgctgcagagaaaacccctgtgtccgacaga gtgaccaagtgtgtaccgagagcctcgtgaacagaaggccttgcttagcgccctggaagtggacgagacata cgtgccc aaagagttcaacgccgagacattcacctccacgccgacatctgcacccctgtccgagaaagagcgg cagatcaagaagcagacagccctgtgctgagctggttaagcacaagccc aaagccacaaagaacagctgaa ggccgtgatggacgacttcgccgccttctgcgagaagtgtgcaaggccgacgacaaagagacatgtcttcgccg aagagggcaagaaactggtgctgctcctcaggtgctcctcgacttggtggaagcggaggaagtgtggtatct ggcgatctgtgtgaacccctcgccatggaacacggcaatatcgccaatagccagattgccgacgagcgt cagagtgacatttctgggactgcaacactgggtgcccagctggctagactgaatagagccgcatggtcaacg cctggacaccagcagcaacgacgataatccctggattcaagtgaacctgtgcggcgtatgtgggtcacaggt gtgttacacagggcgcaagcagactggccagccagagtagatgaaggccttaaggtggcctacagcctgaa cggccacgagttcgaactcatccacgacgtgaacaagaagcacaagaagttgtcggcaactggaacaagaac gccgtgcaggtgaacctgttcgagacacctgtggaagcccagtagcgtgcggctgtaccctacaagctgtcacacc gcctgcactctgagattcgaactgctgggatgcgagctgaacggc
119 =74	EGF-HSA-C1	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVRGDVFPSTCTCLKGYAGNH CETKDAHKSEVA HRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQH KDDNP NL PRLVR PEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFT ECCCQAA DKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKA EFAEVS KLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEK P LLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYAR RHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQN CELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKR MPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVP KEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV

		EKCKADDKETCFEEGKKLVAASQAALCVEPLGMENGNIANSQIAASSVRVTFLLGLQHWVPELARLNRAGMVNAWTPSSNDDNPWIQVNLRRMWVTGVVTQGASRLASHEYLKAFKVAYSLNGHEFDIHDVNKKHKEFVGNWNKNVHVNLFETPVEAQYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCELNG
120	Ácido nucleico de 119	ctggacatctgtagcaagaacccttgccacaacggcgccctgtgcgaagagatttctcaagaagtgcggggcgacggtttcccagctacacctgtacatgtctgaagggctacgccggcaaccactgcgagacaaaggatgccacaagagcgaggtggccacagattcaaggatctggcggaagagaacttcaaggccctgggtgctgatcgccctcgctcagtatctccagcagagcccttcgaggaccacgtgaagctgggtcaacgaagtgcagcagattcgccaagacctgtgtggccgatgagagcgccgagaactgtgataagagcctgcacaccctgttcggcgacaagctgtgtacagtggccactgagagaaaacctacggcgagatggccgactgctgtgccaagcaagagcccgagagaaaacgagtgttctccagcacaaggacgacaaccccaacctgcctagactcgtgcgacccgaagtggatgtgatgtgcaccgctttcacgacaacgaggaaaaccttctgaagaagtacctgtacgagatcgccagacggcaccctacttttatgccctgagctgtgttctcgccaagcgggtataagggcgcttcaccgaatgttgccaggccgctgataaggctgctgtctgtgcctaagctggacgagctgagagatgagggcaaagccagctctgccaagcagagactgaaatgcgccagcctccagaagttcggcgagagagctttaaggcctggcggtgccaagactgagccagagattcctaaggccgagttgcccaggtgtccaagctcgtgaccgatctgacaaaggtgcacaccgagtgctgcacggcgatctgtgaaagagtgctgcgagaagccctgtgtgaaaagtctactgtatcgccgaggtggaagacagagatctgtccgatctgcctagcctggctggtgcgatttcgtggaagcaaggacgtgtgcaagaactacggcgaggccaaggtgtgtttctggcatgtttctgtatgagtacgcccgagacacccgactattctgtggttctgctgctgcggctggcca aaacctacgagacaaccttgaaaaatgtgcgcgctgcccgatcctcacgagtgttatgccaaggtgttcgacgagttcaagcctctgttggaagaacccagaaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagctggcgagtagaagttccagaatgccctgctcgtgcggtacaccaagaaagtgccctcaggtgtccacacctacactggttaggtgtcccgaatctgggcaaagtgggcagcaaggttgcaagcaccctgaggccaagagaatgccttgccgcgaggattacctgagcgtggtgtgaatcagctgtgcgtgtgcacgagaaaacctgtgtccgacagagtgc caagtgtgtaccgagagcctcgtgaacagaaggcctgttttagcgccctggaagtgacgagacatacgtgccaaagagttcaacgcccagacattcacctccacgccgacatctgcacccgttcggagaaagagcggcagat caagaagcagacagccctggtcagctggttaagcacaagcccaaggccaccaagaacagctgaaggccgtgatggacgacttcgccccttctgcgagaagtgctgcaaggccgacgacaaagagacatgcttcgccaaga gggcaagaaactggtggctgcttctcaggccgctgtgtgtgtggaacccctcgccatggaaaacggcaatatcgc caatagccagattgccgcccagcagcgtcagagtgcatttctgggactgcacactgggtgccgagctggcta gactgaatagagccggcatggtcaacgcctggacaccagcagcaacgacgataatccctggattcaagtgaacctgtgcggcgatgtgggtcacaggtgtgttacacagggcgcaagcagactggccagccacgagtatctgaa ggctttaaggtggcctacagcctgaacggccacgagttcgacttcacacgacgtgaacaagaagcacaaa gaggttgtcggaactggaacaagaacggcgtgcacgtgaacctgttcgagacacctgtggaagcccagctacgt ggggctgtaccctacaagctgtcacaccgacctgcactctgagattcgaactgctgggatgcgagctgaacggc
121 =73	FP135	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVGRDVFPSYTCTCLKGYAGNH CETKDAHKSEVA HRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKKDDNP NLPRLVR PEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAA DKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKA EFAEVSKLVDTLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEK PLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYAR RHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQN CELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKR MPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVP KEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV EKCKADDKETCFEEGKKLVACVEPLGMENGNIANSQIAASSVRVTFLLGLQHW VPELARLNRAGMVNAWTPSSNDDNPWIQVNLRRMWVTGVVTQGASRLASHE YLKAFKVAYSLNGHEFDIHDVNKKHKEFVGNWNKNVHVNLFETPVEAQYVRL YPTSCHTACTLRFELLGCELNG
122	Ácido nucleico de 121	ctggacatctgtagcaagaacccttgccacaacggcgccctgtgcgaagagatttctcaagaagtgcggggcgacggtttcccagctacacctgtacatgtctgaagggctacgccggcaaccactgcgagacaaaggatgccacaagagcgaggtggccacagattcaaggatctggcggaagagaacttcaaggccctgggtgctgatcgccctcgct

		cagtatctccagcagagcccttctgaggaccacgtgaagctggtcaacgaagtgaccgagttcgccaagacctg tgtggccgatgagagcgccgagaactgtgataagagcctgcacaccctgttcggcgacaagctgtgtacagtgg ccacactgagagaaacctacggcgagatggccgactgctgtgccaagcaagagcccgagagaaacagagtgc ttctccagcacaaggacgacaaccccaacctgcttagactcgtgcgaccgaagtggatgtgatgtgcaccgc cttcacgacaacgaggaaccttctgaagaagtacctgtacgagatcgccagacggcaccctactttatgcc cctgagctgctgttctcgccaagcgggtataaggcgccttcaccgaatgttgcaggccgctgataaggctgcctg tctgtgcctaagctggacgagctgagagatgagggcaaagccagctctgccaagcagagactgaaatcgcc agcctccagaagttcggcgagagagctttaaggcctgggcccgttgccagactgagccagagatttctaaggcc gagtttgcgaggtgtccaagctcgtgaccgatctgacaaaggtgcacaccgagtgctgtcacggcgatctgctg gaatgtgccgacgatagagccgacctggccaagtagatctgcgagaaccaggacagcatcagcagcaagctg aaagagtgtgcgagaagcccctgctggaaaagtctactgtatcgccgaggtggaaaacgacgagatgcctg ccgatctgcctagcctggctgcccgttctgtgaaagcaaggacgtgtgcaagaactacgcccagggccaaagat gtgttctgggcatgtttctgtatgagtacggccgacagaccccactattctgtggttctgctgctgcggctggcca aaacctacgagacaacctggaaaaatgtgcgcccgtgcccgtatctcacgagtgatgccaaggtgttcgac gagttcaagcctctggtggaagaacccagaaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagctgggcg agtacaagttccagaatgcctgtctgctggtacaccaagaagtgcctcaggtgtccacacctacactggttg aggtgtcccgaatctgggcaaagtgggcagcaagtgttgcaagcaccctgaggccaaagagaatgccttgccg cgaggattacctgagcgtggtgctgaatcagctgtgctgctgcagagaaaaacctgtgtccgacagagtgc caagtgtgtaccgagagcctctgtaacagaaggcctgtttagcgccctggaagtggacgagacatacgtgc ccaaagagttcaacgccgagacattcacctccacgccgacatctgcacctgtccgagaaagagcggcagat caagaagcagacagccctggtcgagctggttaagcacaagcccaaggccaccaaaagacagctgaaggcc gtgatggacgacttcgccccttctgagaaagtgtgcaaggccgacgacaaaagagacatgcttcgccaaga gggcaagaaactggtggcctgtgtggaacccctcggtatggaaaacggcaatatcgccaatagccagattgcc gccagcagcgtcagagtgacatttctgggactgcaacactgggtgcccagctggctagactgaatagagccgg catggtcaacgcctggacaccagcagcaacgacgataatccctggattcaagtgaacctgctgcggcgatgt gggtcacaggtgtgttacacagggcgcaagcagactggccagccagagatctgaaggccttaaggtggcct acagcctgaacggccacgagttcgacttcatccagcagctgaacaagaagcacaagagttgtcggaactg gaacaagaacgcctgtcacgtgaacctgttcgagacacctgtggaagcccagtagctgcgggtgtaccctaca agctgtcacaccgctgcactctgagattcgaactgtgggatgagcagctgaacggc
123	hlgG1_FC_DAP A_Ojal	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVAVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL AAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSGGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
124	Ácido nucleico de 123	gataagacccacacctgtcctcctatgtcctgctccagaactgctcgccggacctccgttttctgtttccacctaa cctaaggacaccctgatgatcagcagaacccctgaagtgcctgtgtggtggtggccgtgtctcacgaagatccc gaagtgaagttcaattggtacgtggacggcggtggaagtgcacaacgccaaagaccaagcctagagaggaacag tacaacagcacctacagagtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggattggtgaacggcaaagagtacaa gtgcaaggtgtccaacaaggccctggcgcctctatcgagaaaaccatctctaaggccaagggccagcctcgg gaacctcaagctgtactgctccttagccgggacgagctgacaaaaatcaggtgtcctgagctgcgcccgtg aagggttttacccttcgatatcgccgtggaatgggagagcaatggccagcctgagaacaactacaagaccac acctcctgtgtgacagcgacggctcattcttctggtgtccaagctgacagtggacaagagcagatggcagca gggcaacgtgttcagctgttctgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacaccagaagctctgtctctgagc cccgcaaaa
125	EGF_hlgG1_FC _DAPA_Botón_ C1	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVGRGDVFPSTCTCLKGAYAGNHCEETKGSCKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVAVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSGGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGKGGSGSGSGSGSCVEPLGMENGNANSQIAASSVRVTFGLQLQHWVP ELARLNRAGMVNAWTPSSNDDNPWIVNLLRRMWVTGVVTQGASRLASHEYL KAFKVAYSLNGHEFDIHDVNKKHKEFVGNWNKNAVHVNLFETPVEAQYVRLYP TSCHTACTLRFELLGCELNGCANPLGLKNNIPDKQITASSSYKTWGLHLFSWNP SYARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQVDLGSSKEVTGIITQGARNFGSVQFVA

		ccgatctgcctagcctggctgccgatttcgtggaagcaaggacgtgtgcaagaactacgccgaggccaaggat gtgtttctgggcatgtttctgtatgagtacgccgcagacaccccgactattctgtggttctgctgctgcggtggcca aaacctacgagacaaccttgaaaaatgtgcgcgctgccgacacctcagagtggtatgccaagggtgttcgac gagttcaagcctctggtggaagaacccagAACctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagctggcg agtacaagttccagaatgcctgctcgtgcggtacaccaagaaagtcctcaggtgtccacacctacactggtg aggtgtcccggaatctgggcaaagtgggcagcaagtgttgcaagcaccctgaggccaagagaatgccttgccg cgaggattatctgagcgtggtgctgaatcagctgtgcgtgctgcacgagaaaacccctgtgctcgacagagtgac caagtgtgtaccgagagcctcgtgaacagaaggcctgttagcgccctggaagtggacgagacatacgtgc ccaaagagttcaacgccgagacattcacctccacgccgacatctgcacccctgtccgagaaagagcggcagat caagaagcagacagccctggtcagctggttaagcacaagcccaaggccaccaaaagacagctgaaggcc gtgatggacgacttcgccccttctgagaagtgtgcaaggccgacgacaaagagacatgcttcgccaaga gggcaagaaactggtggcctgtgtggaacccctcgcatggaaaacggcaatatcgcaatagccagattgcc gccagcagcgtcagagtgacatttctggactgcaacactgggtgccgagctggctagactgaatagagccgg catggtcaacgcctggacaccagcagcaacgacgataatccctggattcaagtgaacctgtcggcgatgt gggtcacaggtgtgttacacagggcgcaagcagactggccagccagagtatctgaaggccttaaggtggcct acagcctgaacggccagagttcgacttcacacgacgtgaacaagaagcacaagagttgtcggcaactg gaacaagaacggcgtgcacgtgaacctgttcgagacacctgtggaagccagctacgtgcggtgtaccctaca agctgtcacaccgctgcactctgagattcgaaactgctgggatgagctgaacggc
133 =71	EGF[EDIL3]_HS A[A626– L633]eliminado_ C1[EDIL3]	DICDPNPCENGIGICLPGLADGSFSCECPDGFDPNCSSVVEVASDEEEPTSA CTPNPCHNGGTCEISEAYRGDTFIGYVCKPRGFNGIHCQHNINECEVEPCNG GICTDLVANYSCPCGEFMGRNCQYKDAHKEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFA QYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRE TYGEMADCCAKQEPERNECFQHKDDNPNLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFL KKLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTCCQAADKAACLLPKLDELRLDEGK ASSAKQRLKASLQKGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTE CCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMP ADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYE TTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLV RYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSE KERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEG KKLVACSGPLGIEGGIISNQQITASSTHRALFGLQKWYPYARLNKKGLINAWTAA ENDRWPWQINLQRKMRVTGVITQGAKRIGSPEYIKSYKIAYSNDGKTWAMYKVK GTNEDMVFGRNIDNNTPYANSFTPIKAQYVRLYPQVCRRHCTLRMELLGCELS G
134	Ácido nucleico de 133	gacatctgcgaccccaatccttgcgagaatggcggtcatttctgctgactggccgatggcagcttctctgtga atgccccgatggcttcacagaccccaattgcagctctgtgtggaagtggccagcgacgaggaagaacctaca agcgtggtggccctgcacaccaatccatgtcataatggcggaacctgcgagatcagcgaggcctacagagggc ataccttcacggctacgtgtgcaagtgcacccagaggcttcaatggcatccactgccagcacaacatcaacgagt gcgaggtggaacctgcaagaacggcgcatctgtaccgacctggtggccaattactcttcgagtgccctggc gagttcatgggcagaaactgccagtacaaggacgcccacaagagcgaggtggccacagattcaaggacctg ggcgaagagaactcaaggccctggtgctgacgccttcgctcagtatctccagcagagcccttcgaggaccac gtgaagctggtcaacgaagtaccgagttcgccaagacctgtgtggccgatgagagcgccgagaactgtgaca agagcctgcacacactgttcggcgacaagctgtgtaccgtggccacactgagagaaacctacggcgagatggc cgactgctgtgccaagcaagagcccagagaaacgagtgcttcctccagcacaaggatgacaaccccaacct gcctagactcgtgcggcctgaagtggatgtgatgtgcaccgccttcacgacaacaggaaaccttcctgaagaa gtacctgtacgagatgccagacggcaccctactttatgcccctgagctgctgttcttcgccaagcgggtataagg ccgcttcaccgaatgttgccaggcgtgataaggctgctgtcgtcctaagctggacgagctgagagatg agggcaaaagccagcttgcgaagcagagactgaaatgcgccagcctccagaagtgcggcgagagacttttaa ggcctggggcgttgccagactgagccagagatttctaaggccgagttgcccaggtgtccaagctcgtgaccga tctgacaaaggtgcacaccgagtgctgtcacggcgatctgtggaatgtgccgacgatagagccgacctggcca agtatactcgcgagaaccaggacagcatcagcagcaagctgaaagagtgctgcgagaagccctgtctggaaa agtcactgtatcgccgaagtggaaaacgacgagatgcccgccgatctgccttctggtgctgcgatttcgtgga aagcaaggatgtgtgcaagaactacgccgaggccaaagatgtgttctgggcatgtttctgtatgagtacgccgc

		agacaccccgactattctgtggttctgtctgctgctggcctggccaagacatacagagacaaccctggaaaaatgctgc gccgctgccgatcctcacgagtggttatgccaagggtgttcgacgagttcaagccactggtggaagaaccccagaa cctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagctgggagagtagaagttccagaatgccctgctgctgcggtg caccaagaaagtgcctcaggtgtccacacctactggtgaggtgtcccggaatctgggcaaagtgggcagca agtgttgcaagcacctgaggccaagagaatgccttgctgctgaggtgattacctgagcgtggtgctgaatcagctgt gctgctgcacgagaaaaaccctgtgtccgacagagtgaccaagtgtgtaccgagagcctcgtgaacagaag gccttgcttagcgcctggaagtggacgagacatacgtgccaaagagttcaacgccgagacattcacctcca cgccgatatctgcaccctgtccgagaaagagcggcagatcaagaagcagacagccctggtcagagctggttaag cacaagcccaaggccaccaaagaacagctgaaggccgtgatggacgacttcgccgctttgtcgagaagtgt gcaaggccgacgacaaaagagacatgcttcgccgaagaggggcaaaaactggtggcctgttctggccctctggg catcgaaggcggcatcatcagcaatcagcagatcacggccagcagcaccacagagcactgtttggcctgcaa aagtgtatccctactacgcccggctgaacaagaaggccgtgattaacgcttggacagccgagcaggaatgaca gatggccctggattcagatcaacctccagcgaagatgagagtgaccggcggttatcacacagggcgcaaagag aatcggctccctgagtacatcaagagctacaagatcgctacagcaacgacggcaagacacctgggccaatgtac aaagtgaagggcaccaacgaggacatggtgttcggggcaacatcgacaacaacaccccttacgccaacag ctcacccctctatcaaggcccagtagctgctgctgtaccctcaagtgtgcagaaggcactgtaccctgagaatg gaactgctgggctgcgaactgtctggc
135	EGF[EDIL3]_HS A[A626– L633]eliminado_ C2[EDIL3]	DICDPNPCENGICLPGLADGFSCECPDGFDPNCSSVVEVASDEEEPTSA GPTNPCHNGGTCEISEAYRGDTFIGYVCKCPRGFNGIHCQHNINECEVEPC NGGICTDLVANYSCPCGEFMRNCQYKDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALV LIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGD KLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFQHKDDNPPLRVLVRPEVD VMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTCCQ AADKAACLLPKLDELRLDEGKASSAKQRLKASLQKGERAFKAWAVARL SQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICEN QDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVC KNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADP HECYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQNCLEFQLEGEYKFQNALLVRYTKKVP QVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHAD ICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADD KETCFEEGKKLVACSEPLGMKSGHIQDYQITASSIFRTLNDMFTWEPRK ARLDKQGVNAWTSGHNDQSQWLQVDLLVPTKVGTGIITQGAKDFGHVQF VGSYKLAYSNDGEHWTVYQDEKQRKDKVFQGNFDNDTHRKNVIDPPIYAR HIRILPWSWYGRITLRSLLGC
136	Ácido nucleico de 135	gacatctgcgaccccaatccttgcgagaatggcggcattgtctgcctggactggccgatggcagcttcttctgtga atgccccgatggcttcacagaccccaattgcagctctgtggtggaagtggccagcagcaggaagaacctaca agcgtggtggccctgcacaccaatccatgtcataatggcggaacctgcgagatcagcagggcctacagagggc ataccttcacggctacgtgtgcaagtgcacagaggctcaatggcatccactgccagcacaacatcaacgagt gcgaggtggaaccatgcaagaacggcgcatctgtaccgacctggtggccaattactcttgcgagtgccctggc gagttcatgggcagaaactgccagtacaaggacgcccacaagagcagaggtggccacagattcaaggacctg ggcgaagagaactcaaggccctggtgtgatgccttcgctcagtagtctccagcagagcccttcgaggaccac gtgaagctggtcaacgaagtaccgagttcgccaagacctgtgtggccgatgagagcgccgagaactgtgaca agagcctgcacacactgttcggcgacaagctgtgtaccgtggccacactgagagaaacctacggcgagatggc cgactgctgtgccaagcaagagcccagagagaacgagtgcttcctccagcacaaggtgacaaccccaacct gcctagactcgtgcggcctgaagtggatgtgatgtgcaccgcttcacgacaacgaggaaacctcctgaagaa gtacctgtacgagatgcgcagacggcaccctactttatgccctgagctgctgttctcgccaagcgggtataagg ccgcttcaccgaatgttgccaggcgcgtgataaggctgctgtctgctgctaagctggacgagctgagagatg agggcaaaagccagctctgccaagcagagactgaaatgccagcctccagaagttcggcgagagagcttttaa ggcctgggcccgttgccagactgagccagagatttctaaggccgagtttgccgaggtgtccaagctcgtgaccga tctgacaaaaggtgcacaccgagtgctgtcacggcgatctgtggaatgtgacgacgatagacggacctggcca agtatatctgcgagaaccaggacagcatcagcagaagctgaaagagtgctgcgagaagccctctgtggaaa agtctactgtatgccgaagtggaaaacgacgagatgcccgccgatgccttctgtggtgcgagttctgtgga aagcaaggatgtgtgcaagaactacggcaggccaaagatgtgttctgggcatgttctgtatgagtacggccgc agacaccccgactattctgtggttctgtctgctgctgctggcctggccaagacatacagagacaaccctggaaaaatgctgc

		gccgctgccgatcctcacgagtgttatgccaaggtgttcgacgagttcaagccactggtggaagaaccccagaa cctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagctgggagtagaagtccagaatgccctgctgcggtgta caccaagaaagtgcctcaggtgtccacacctactggtgaggtgtccggaatctgggcaaagtggcgagca agtgttgcaagcacctgaggccaagagaatgccttgcgagcaggtacacagctgtgacgagcctctgaacagaag gccttgcttagcgcctggaagtggacgagacatacgtgccaaagagttcaacgccgagacattcacctcca cgccgatatctgcaccctgtccgagaaagagcggcagatcaagaagcagacagccctggtcagagctggttaag cacaagcccaaggccaccaaagaacagctgaaggccgtgatggacgacttcgccgcttctgcgagaagtgt gcaaggccgacgacaaagagacatgcttcgccgaagaggggcaagaaactggtggcctgttctgagccactgg gcatgaagtctggccacatccaggattaccagatcacgccagcagcatcttcagaaccctgaacatggatatgt tcacctgggagccccggaaggccagactggataagcagggaagtgaaacgctggaccagcggccacaat gaccagtctcagtggtgcaagtggacctgctggtgctaccaaagtaccggcatcatcacacagggcgcaa aggattcggccacgtgcagtttgggagctacaagctggcctacagcaacgatggcgagcactggacagtgt accaggacgagaagcagcgggaaggataaggtgtccagggaacctcgacaacgacaccaccggaagaa cgtgatcgaccctcctatctacgcccggcacatcagaatcctgccttggtctgtgacggccggatcaccttgaga agcagctgcttggtatgt
137	EGF_HSA[A626 – L633]eliminado_ C2	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVGRDVFPSYCTCTCLKGYAGNHCETKDAHKSEVA HRFKDLGEENFKALVLIQFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENC KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPPLPRLVR PEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTCCQAA DKAACLLPKLDELRLDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKA EFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEK PILLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYAR RHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQ CELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKR MPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVP KEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV EKCKADDKETCFEEGKKLVACANPLGLKNNIPDKQITASSYKWTGLHLFS WNPSYARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQVDLGSSKEVTGIIQGARNFGSV QFVASYKVAYSNDSDANWTEYQDPRTGSSKIFPGNWDNHSKKNLFETPILARYV RILPVAWHNRIRLLELLGC
138	Ácido nucleico de 137	ctggacatctgtagcaagaacccctggcacaacggcgccctgtgcgaagagatttcaagaagtgcggggcga cgtttcccagctacacctgtacatgtctgaagggctacgccggcaaccactgcgagacaaaggatgccaca agagcgaggtggccacagattcaaggatctggcggaagagaactcaaggccctggtgctgatcgccctcgct cagtatctccagcagagcccttcgaggaccacgtgaagctggtcaacgaagtaccgagttcgccaagacctg tgtggccgatgagagcgccgagaactgtgataagagcctgcacaccctgttcggcgacaagctgtgtacagtgg ccactgagagaaacctacggcgagatggccgactgctgtgccaagcaagagcccagagaaacagagtgc ttctccagcacaaggacgacaaccccaacctgcttagactctgacgccgaagtggatgtgtgtgaccgc cttcacgacaacgaggaaacctcctgaagaagtacctgtacgagatcgccagacggcaccctactttatgcc cctgagctgtgtcttcgccaagcgggtataagggccttcaccgaatgttgccaggccgctgataaggctgctg tctgtgcctaagctggacgagctgagagatgagggcaaagccagctctgccaagcagagactgaaatgcgcc agcctccagaagttcggcgagagagctttaaggcctgggcccgttgccagactgagccagagatttctaaggcc gagtttgccgaggtgtccaagctctgacccatctgacaaagggtgcacaccgagtgctgtcacggcgatctgctg gaatgtgcccagcagatagagccgacctggccaagtacatctgcgagaaccaggacagcatcagcagaagctg aaagagtgctgcgagaagcccctgctggaaaagtctactgtatcgccgaggtggaaaacgacgagatgcctg ccgatctgcctagcctggctgcccgttctgtggaagcaaggacgtgtgcaagaactacgccgaggccaaggat gtgtttctgggcatgtttctgtatgagtacgcccgacacaccccgactattctgtggttctgctgctgcggctggcca aaacctacgagacaaccttgaaaaatgtgcgcccgtgcccgtcctcacgagtggtatgccaaggtgttcgac gagttcaagcctctggtggaagaacccagaaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagctggcg agtacaagttccagaatgccctgctgctggtgacaccaagaagtgcctcaggtgtccacacctactggtg aggtgtcccgaatctgggcaaagtggcgagcaaggtgtgcaagcaccctgaggccaagagaatgcctgctg cgaggattacctgagcgtggtgctgaatcagctgtgctgctgcagagaaaacccctgtgtccgacagagtgac caagtgtgtaccgagagcctctgaacagaaggcctgtttagcgccctggaagtggacgagacatacgtgc ccaagagttcaacgccgagacattcacctccacgcccagacatctgcaccctgtccgagaaagagcggcagat

		caagaagcagacagccctggctgagctggtaagcacaagcccaaggccaccaagaacagctgaaggcc gtgatggacgactcgccgctttgtcgagaagtgtgcaaggccgacgacaaagagacatgcttcgccaaga gggcaagaaactgggtggcctgtgtaaccctctggcctgaagaacaacagcatccccgataagcagatcacc gccagcagcagctataagacatggggcctgcacctgttcagctggaaccctcttacgccagactggacaagca gggcaactcaatgcttgggtggcggcagctacggcaatgatcagtggtgcaagtggaactgggcagcagca aagaagtacagggcatcatcaccaggggcgcaagaaattcggcagcgtgcagttcgtggccagctacaaggt ggcctacagcaacgatagcgccaactggaccgagatcaggaccctagaaccggcagctccaagatctcccc ggcaactgggacaaccacagccacaagaagaatctgttcgagacacccatcctggccagatacgtgcggattc tgctgtggcctggcacaacagaatcgccctgagactggaactgctgggctgt
139	EGF_HSA[A626 -L633]	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVGRDVFPSYCTCLKGYAGNHCETKDAHKSEVA HRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVR PEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTCCQAA DKAACLLPKLDELRLDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKA EFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLCADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEK PLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADVFESKDVCKNYAEAKDVFGLMFLYFYAR RHPDYSVLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFEDEFKPLVEEPQNLIKQN CELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKR MPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVP KEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV EKCKADDKETCFEEGKKLVA
140	Ácido nucleico de 139	ctggacatctgtagcaagaacccttgccacaacggcgccctgtgcaagagatttctcaagaagtgcggggcga cgttttcccagctacacctgtacatgtctgaagggctacgcccgaaccactgcgagacaaaggatgccaca agagcgaggtggcccacagattcaaggatctggcggaagagaactcaaggccctgggtgctgacgcttcgct cagtatctccagcagagcccttcgaggaccacgtgaagctggtcaacgaagtgaccgagttcgccaagacctg tgtggccgatgagagcgccgagaactgtgataagagcctgcacaccctgttcggcgacaagctgtgtacagtgg ccactgagagaaacctacggcgagatggccgactgctgtgccaagcaagagcccagagaaaacgagtg ttctccagcacaaggacgacaaccccaacctgcttagactctgctgacccgaagtggatgtgtgtcaccgc cttcacgacaacgaggaaccttctgaagaagtacgtgtacgagatcgccagacggcaccctactttatgcc cctgagctgctgttctcgccaagcgggtataaggcgcctcaccgaatgttgccaggccgctgataaggctgctg tctgctgctaagctggacgagctgagagatgagggcaagccagctctgccaagcagagactgaaatcgcc agcctccagaagtgcggcgagagagctttaaggcctgggctggtgccaagctgagccagagatttctaaggcc gagttgcccaggtgtccaagctctgaccgatctgacaaagggtgcacaccgagtgctgtcacggcgatctgctg gaatgtgcccagcatagagccgacctggccaagtagatctgcaagaaccaggacagcatcagcagcaagctg aaagagtgtgcaagaagcccctgctggaaaagtctactgtatcgccgaggtggaaaacgacgagatgctg ccgatctgcctagcctggctgcccattctgtgaaagcaaggacgtgtgcaagaactacgcccagggccaaggat gtgttctgggcatgtttctgtatgagtacggccgacagacccccgactattctgtgttctgctgctgcccgtggcca aaacctacgagacaaccttgaaaaatgtgctgcccgtgcccgatcctcacgagtggtatgccaagggtgttcgac gagttcaagcctctggtggaagaacccagaaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagctggcg agtacaagttccagaatgccctgctgctggtacaccaagaaagtgcctcaggtgtccacacctacactggtg aggtgtcccgaatctgggcaagtggtgagcaagtggtgcaagcaccctgaggccaagagaatgcttgcgc cgaggattacctgagcgtggtgctgaatcagctgtgctgctgcagagaaaacctgtgtccgacagagtgac caagtgtgtaccgagagcctcgtgaacagaaggcctttagcgccctggaagtggacgagacatacgtgc ccaaagagttcaacgccgagacattcacttcacgcgacatctgcaccctgtccgagaaaagagcggcagat caagaagcagacagccctgtgctgagctggtaagcacaagcccaaggccaccaagaacagctgaaggcc gtgatggacgactcgccgctttgtcgagaagtgtgcaaggccgacgacaaagagacatgcttcgccaaga gggcaagaaactggtggct
141	MFG-E8 C1 de unión a PS	CVEPLGLENGNIANSQIAASSVRVTFGLQLHWVPELARLNRAGMVNAWTPSSND DNPWIQVNLLRRMWVTGVVTQGASRLASHEYLKAFKVAYSLNGHEFDIHDVKN KHKEFVGNWNKNAHVHNLFETPVEAQYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCELNG
142	MFG-E8 [L76M] C1 de unión a PS	CVEPLGMENGNISQIAASSVRVTFGLQLHWVPELARLNRAGMVNAWTPSSN DDNPWIQVNLLRRMWVTGVVTQGASRLASHEYLKAFKVAYSLNGHEFDIHDVN KKHKEFVGNWNKNAHVHNLFETPVEAQYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCELNG

143	MFG-E8 C2 de unión a PS	CANPLGLKNNIPDKQITASSSYKTWGLHLFSWNPSYARLDKQGNFNAWVAGS YGNDQWLQVDLGGSSKEVTGIITQGARNFGSVQFVASYKVAYSNDSANWTEYQD PRTGSSKIFPGNWDNHSKKNLFFETPILARYVRILPVAWHNRIRALRLELLGC
144	EDIL-3 C1 de unión a PS	CSGPLGIEGGIISNQITASSSTRALFGLQKWYPYARLNKKGLINAWTAAENDR WPWIIQINLQRKMRVTGVITQGAKRIGSPEYIKSYKIAYSNDGKTWAMYKVKGTE DMVFRGNIDNNTPYANSFTPIKAQYVRLYPQVCRRHCTLRMELLGCELSG
145	EDIL-3 C2 de unión a PS	CSEPLGMKSGHIQDYQITASSIFRTLNMDFMFTWEPRKARLDKQGKVNAWTS NDQSQWLQVDLLVPTKVTGIITQGAKDFGHVQFVGSYKLAYSNDGEHWTVYQD EKQRKDKVFQGNFDNDTHRKNVIDPPIYARHIRILPWSWYGRITLRSELLGCTEE E
146	EDIL-3 C2 de unión a PS TEEE truncado	CSEPLGMKSGHIQDYQITASSIFRTLNMDFMFTWEPRKARLDKQGKVNAWTS NDQSQWLQVDLLVPTKVTGIITQGAKDFGHVQFVGSYKLAYSNDGEHWTVYQD EKQRKDKVFQGNFDNDTHRKNVIDPPIYARHIRILPWSWYGRITLRSELLGC
147 =117	Secuencia de la proteína FP133	LDICSKNPCHNGGLCEEISQEVGRGDVFPSTCTCLKGYAGNHCECTKGS DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLNEVTEFAKTC VADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNPPLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELL FFAKRYKAAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRLDEGKASSAKQRLKASLQK FGERAFKAWAVARLSQRFKAEFAEVSKLVTDLTKEVTECHGDLLECADDRA DLAKYICENQDSISSKLKECC EKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAKTYE TTLEKCCAAADPHECYAKVDFEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQ NALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSV VLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAET FTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVE KCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGGSGGSGGSGGSCVEPLGM ENGNIANSQIAASSVRVTFGLQHWVPELARLN RAGMVNAWTPSSNDNPW IQVNLRRMWVTGVVTQGASRLASHEYLKAFKVAYSLNGHEFDFIHDVNKK HKEFVGNWNKNAVHVNLFFETPVEAQYVRLYPTSCHTACTLRFELLGCE LNG
148	Secuencia de ácido nucleico FP133	ctggacatctgtagcaagaacccttgccacaacggcgccctgtgcaagagatttctcaagaagtgcggggcga cgtttccccagctacacctgtacatgtctgaagggctacggcgcaaccactgcgagacaaaaggatctgatgc ccacaagagcgcaggtggccacagattcaaggatctggcgcaagagaactcaaggcctggtgctgatcgcc ttcgctcagatctccagcagagcccttcgaggaccacgtgaagctggtcaacgaagtgcgagctgcgcaag acctgtgtggccgatgagagcgcgagaaactgtgataagagcctgcacacacctgtcggcgacaagctgtgtac agtggccacactgagagaaacctacggcgagatggccgactgctgtgccaagcaagagcccgagagaaacg agtgtctctccagcacaaggacgacaaccccaacctgcttagactcgtgacccgaagtggatgtgatgtgc accgcctttcacgacaacgaggaacaccttctgaagaagtacctgtacgagatcgccagacggcaccctacttt tatgcccctgagctgctgttcttccgaagcgggtataaggcgccttcaccgaatgttgccaggccgctgataaggc tgctgtctgtgcttaagctggacgagctgagagatgagggcaagccagctctgccaagcagagactgaaat gcgcccagctccagaagttcggcgagagagctttaaggcctggcggttgccagactgagccagagatttccta aggccgagtttgcgaggtgtcaagctcgtgaccgatctgacaaaggtgcacaccgagtgctgtcacggcgat ctgctggaatgtgcccagcagatagacggacctggccaagtacatctgcgagaaccaggacagcatcagcagc aagctgaaagagtgctgcgagaagcccctgctgaaaagtctactgtatcgccgaggtggaaaacgacgag atgctgcccgatctgcctagcctggctgcccgttctggaagcaaggacgtgtgcaagaactacgcccagggc caaggatgtgttctgggcatgttctgtatgagtagcggcgagacaccccgactattctgtgttctgtgctgcgg ctggccaaaacctacgagacaacctggaaaaatgctgcggcgtgcgacatcctcagagtgattatgccaaggt gttcgacgagttcaagcctctgggtggaagaaccccgagaacctgatcaagcagaactgcgagctgttcgagcagc tgggcgagtacaagttccagaatgcctgctcgtgctgtacaccaagaaagtgctcaggtgtccacacctacac tggttgaggtgtcccgaatctgggcaagtgccgagcaagtggtgcaagcaccctgaggccaagagaatgcct tgccgagagattacctgagcgtggtgtgaatcagctgtgctgctgcagagaaaacctgtgtccgacaga gtgaccaagtgtgtaccgagagcctgtgaacagaaggcctgttttagccctggaagtggacgagacata cgtgcccgaagagttcaacgcgagacattcacctccacgcgacatctgcacacctgtccgagaaagagcgg cagatcaagaagcagacagccctggtcagctggttaagcacaagcccaaggccaccaagaacagctgaa ggccgtgatggacgacttcgcccgttctgcgagaagtgtctgcaaggccgacgacaaagagacatgcttcgccc

		aagagggcaagaaactggtggctgcctctcaggctgctctcggactggtggaagcggaggaagtggatct ggcgatctgtgtggaacccctcgcatggaaaacggcaatatcgccaatagccagattgccgcagcagcgt cagagtgcatttctgggactgcaacactgggtgccgagctggctagactgaatagagccgcatggtcaacg cctggacaccagcagcaacgacgataatccctggattcaagtgaacctgctcggtgctatgtgggtcacaggt gtgttacacagggcgcaagcagactggccagccagagtatctgaaggccttaaggtggcctacagcctgaa cggccacgagttcgacttcacacgacgtgaacaagaagcacaagagttgtcggaactggaacaagaac gccgtgcacgtgaacctgttcgagacacctgtggaagcccagtagctggtggtgtaccctacaagctgcacac gcctgcactctgagattcgaactgctgggatgagctgaacggc
--	--	---

5

La presente solicitud también incluye variantes de cada una de las SEQ ID NO: 69, 70 y 72, en donde el dominio similar a EGF de la secuencia EDIL3 incluida en la misma corresponde a cualquiera de las siguientes secuencias: SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 100, o SEQ ID NO: 101.

10 La presente solicitud también incluye una proteína de fusión terapéutica que comprende los dominios de unión a integrina de MFGE8 o EDIL3, y dominios de unión a PS como el dominio V de IgSF de TIM4 o el dominio GLA de las variantes de la proteína puente GAS6 (por ejemplo, FP1147 y FP1148).

15 **Modificación de las Proteínas de la Presente Descripción**

La presente solicitud incluye variantes de las proteínas descritas en este documento y/o fragmentos de las mismas que tienen diversas modificaciones en los dominios, así como fusiones y conjugados de las moléculas descritas. Por ejemplo, un dominio de la proteína de fusión terapéutica puede tener una modificación conservadora

20 de residuos de aminoácidos, y en donde las proteínas modificadas retienen o tienen propiedades mejoradas en comparación con una proteína de fusión que comprende el dominio original. Alternativamente, un dominio de la proteína de fusión terapéutica puede tener una o más deleciones de residuos de aminoácidos, en donde las proteínas de fusión modificadas retienen o tienen propiedades mejoradas en comparación con la proteína que

25 comprende el dominio original. Alternativamente, las proteínas de fusión terapéuticas pueden tener una o más inserciones de residuos de aminoácidos, en donde las proteínas modificadas retienen o tienen propiedades mejoradas en comparación con la proteína no modificada. En una modalidad, dicha inserción de aminoácidos incluye residuos de glicina o serina en varias combinaciones para funcionar como un ligador entre dominios de la

30 proteína principal.

Se puede realizar mutagénesis dirigida al sitio o mutagénesis mediada por PCR para introducir la mutación o mutaciones y el efecto sobre la unión de integrina y/o PS, u

5 otra propiedad funcional de interés, puede evaluarse en ensayos *in vitro* o *in vivo*. Pueden introducirse modificaciones conservadoras (como se trató anteriormente) y/o las mutaciones pueden ser sustituciones, adiciones o deleciones de aminoácidos. Además, típicamente no se alteran más de uno, dos, tres, cuatro o cinco residuos dentro de un dominio de unión.

10 Las variantes de la secuencia de aminoácidos de las proteínas de fusión terapéuticas, que tienen propiedades esencialmente similares a las variantes no modificadas, pueden prepararse mediante la introducción de cambios de nucleótidos apropiados en los ADN codificantes o mediante la síntesis de las variantes deseadas. Tales variantes incluyen, por ejemplo, deleciones o inserciones o sustituciones de

15 residuos dentro de las secuencias de aminoácidos de las moléculas presentes. En algunas modalidades, las variantes pueden incluir secuencias ligadoras adicionales, secuencias ligadoras reducidas o eliminación de secuencias ligadora y/o mutaciones o sustituciones de aminoácidos y delección de uno o más aminoácidos. Se realiza cualquier combinación de delección, inserción y sustitución para llegar al constructo final, siempre

20 que el constructo final posea las características deseadas. Los cambios de aminoácidos también pueden alterar los procesos postraduccionales de las moléculas, como cambiar el número o la posición de los posibles sitios de glicosilación.

Métodos de Producción de Moléculas Recombinantes

25 Ácidos nucleicos y sistemas de expresión

En una modalidad, la presente solicitud proporciona un método para producir una o más cadenas polipeptídicas de la proteína de fusión terapéutica de forma recombinante, que comprende: 1) producir uno o más constructos de ADN que comprenden una molécula de ácido nucleico que codifica una cadena polipeptídica de la molécula de unión

30 multiespecífica ; 2) introducir dicho(s) constructo(s) de ADN en uno o más vectores de expresión; 3) co-transfectar dicho(s) vector(es) de expresión en una o más células huésped; y 4) expresar y ensamblar la molécula en una célula huésped o en solución.

A este respecto, la descripción proporciona ácidos nucleicos aislados, por ejemplo, uno o más polinucleótidos, que codifican las proteínas de fusión terapéuticas descritas en

35 el presente documento. Las moléculas de ácido nucleico incluyen ADN y ARN tanto en forma monocatenaria como bicatenaria, así como las correspondientes secuencias complementarias. Las moléculas de ácido nucleico de la invención incluyen genes de

5 longitud completa o moléculas de ADNc así como una combinación de fragmentos de los mismos. Los ácidos nucleicos de la invención se derivan de fuentes humanas, pero la invención incluye los derivados de especies no humanas.

Un "ácido nucleico aislado" es un ácido nucleico que se ha separado de secuencias genéticas adyacentes presentes en el genoma del organismo del que se aisló
10 el ácido nucleico, en el caso de ácidos nucleicos aislados de fuentes naturales. En el caso de ácidos nucleicos sintetizados enzimáticamente a partir de una plantilla o químicamente, tales como productos de PCR, moléculas de ADNc u oligonucleótidos, por ejemplo, se entiende que los ácidos nucleicos resultantes de tales procesos son ácidos nucleicos aislados. Una molécula de ácido nucleico aislada se refiere a una molécula de
15 ácido nucleico en forma de un fragmento separado o como un componente de un constructo de ácido nucleico más grande. En una modalidad preferida, los ácidos nucleicos están sustancialmente libres de material endógeno contaminante. La molécula de ácido nucleico se ha derivado de modo preferente de ADN o ARN aislado al menos una vez en forma sustancialmente pura y en una cantidad o concentración que permite la
20 identificación, manipulación y recuperación de las secuencias de nucleótidos que lo componen mediante métodos bioquímicos estándar (como los descritos en Sambrook *et al.* al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1989)). De modo preferente, dichas secuencias se proporcionan y/o se construyen en forma de un marco de lectura abierto ininterrumpido por secuencias
25 internas no traducidas, o intrones, que están típicamente presentes en genes eucariotas. Las secuencias de ADN no traducido pueden estar presentes en 5' o 3' de un marco de lectura abierto, donde las mismas no interfieren con la manipulación o expresión de la región codificante.

La presente invención también proporciona sistemas de expresión y constructos
30 en forma de plásmidos, vectores de expresión, casetes de transcripción o expresión, que comprenden al menos un polinucleótido como se describió anteriormente. Además, la invención proporciona células huésped que comprenden dichos sistemas o constructos de expresión.

En una modalidad, la presente descripción proporciona un método para preparar
35 una proteína de fusión terapéutica que comprende las etapas de: (a) cultivar una célula huésped que comprende un ácido nucleico que codifica la proteína de fusión, en donde la

5 célula huésped cultivada expresa la proteína de fusión; y (b) recuperar la proteína de fusión del cultivo de la célula huésped.

También se proporcionan en la descripción los vectores de expresión y las células huésped para producir las proteínas de fusión terapéuticas descritas anteriormente. El término "vector" significa cualquier molécula o entidad (por ejemplo, ácido nucleico, plásmido, bacteriófago o virus) que es adecuada para la transformación o transfección de una célula huésped y contiene secuencias de ácido nucleico que dirigen y/o controlan (junto con la célula huésped) la expresión de una o más regiones codificantes heterólogas unidas operativamente a las mismas. Pueden emplearse varios vectores de expresión para expresar los polinucleótidos que codifican cadenas o dominios de unión de la molécula. Se pueden utilizar vectores de expresión tanto basados en virus como no víricos para producir la proteína de fusión terapéutica en una célula huésped de mamífero. Los vectores y sistemas no virales incluyen plásmidos, vectores episomales, típicamente con un casete de expresión para expresar una proteína o ARN, y cromosomas artificiales humanos (véase, por ejemplo, Harrington *et al.*, (1997) Nat Genet 15: 345). Por ejemplo, los vectores no virales útiles para la expresión de polinucleótidos y polipéptidos en células de mamíferos (por ejemplo, humanas) incluyen pThioHis A, B & C, pcDNA3.1/His, pEBVHis A, B & C, (Invitrogen, San Diego, CA), vectores MPSV y muchos otros vectores conocidos en la técnica para expresar otras proteínas. Los vectores virales útiles incluyen vectores basados en retrovirus, adenovirus, adeno virus asociados, virus del herpes, vectores basados en SV40, virus del papiloma, virus HBP Epstein Barr, vectores del virus vaccinia y virus Semliki Forest (SFV). Véase, Brent *et al.*, (1995) supra; Smith, Annu. Rev. Microbiol. 49: 807; and Rosenfeld *et al.*, (1992) Cell 68: 143.

La elección del vector de expresión depende de las células huésped previstas en las que se va a expresar el vector. Normalmente, los vectores de expresión contienen un promotor y otras secuencias reguladoras (por ejemplo, potenciadores) que están unidas operativamente a los polinucleótidos que codifican una proteína de fusión terapéutica. En algunas modalidades, se emplea un promotor inducible para prevenir la expresión de secuencias insertadas excepto en condiciones inductoras. Los promotores inducibles incluyen, por ejemplo, arabinosa, lacZ, promotor de metalotioneína o un promotor de choque térmico. Los cultivos de organismos transformados se pueden expandir en condiciones no inductoras sin sesgar la población para codificar secuencias cuyos productos de expresión son mejor tolerados por las células huésped. Además de los

5 promotores, también se pueden requerir o desear otros elementos reguladores para la expresión eficaz de las proteínas de fusión terapéuticas. Estos elementos incluyen típicamente un codón de iniciación ATG y un sitio de unión de ribosoma adyacente u otras secuencias. Además, la eficacia de expresión puede mejorarse mediante la inclusión de potenciadores apropiados para el sistema celular en uso (véase, por ejemplo, Scharf *et al.*, (1994) *Results Probl. Cell Differ.* 20: 125; and Bittner *et al.*, (1987) *Meth. Enzymol.*, 153 :516). Por ejemplo, el potenciador de SV40 o potenciador de CMV se puede utilizar para aumentar la expresión en células huésped de mamífero.

Los vectores de expresión también pueden proporcionar una posición de secuencia señal de secreción para formar una proteína de fusión con polipéptidos codificados insertando las secuencias de dominios de unión y/o dominios de solubilización descritas anteriormente. Más a menudo, las secuencias insertadas se unen a secuencias señal antes de su inclusión en el vector. Los vectores que permiten la expresión de los dominios de unión y el dominio de solubilización como proteínas de fusión conducen de ese modo a la producción de proteínas manipuladas intactas. Una célula huésped, cuando se cultiva en condiciones apropiadas, se puede utilizar para expresar una proteína diseñada que posteriormente se puede recolectar del medio de cultivo (si la célula huésped la secreta al medio) o directamente de la célula huésped que la produce (si no se secreta). La selección de una célula huésped apropiada dependerá de varios factores, tales como niveles de expresión deseados, modificaciones de polipéptidos que son deseables o necesarias para la actividad (tales como glicosilación o fosforilación) y facilidad de plegamiento en una molécula biológicamente activa. Una célula huésped puede ser eucariota o procariota.

Las líneas celulares de mamíferos disponibles como huéspedes para la expresión se conocen en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, líneas celulares inmortalizadas disponibles de la American Type Culture Collection (ATCC) y cualquier línea celular utilizada en un sistema de expresión conocido en la técnica se puede utilizar para preparar las proteínas de fusión recombinantes de la invención. En general, las células huésped se transforman con un vector de expresión recombinante que comprende ADN que codifica una proteína de fusión deseada. Entre las células huésped que pueden emplearse se encuentran procariotas, levaduras o células eucariotas superiores. Los procariotas incluyen organismos gramnegativos o grampositivos, por ejemplo *E. coli* o bacilos. Las células eucariotas superiores incluyen células de insectos y líneas celulares

5 establecidas de origen mamífero. Ejemplos de líneas de células huésped de mamíferos adecuadas incluyen las células COS-7, células L, células CI27, células 3T3, células de ovario de hámster chino (CHO) o sus derivados y líneas celulares relacionadas que crecen en medios sin suero, células HeLa, líneas celulares BHK., la línea celular CV-1 EBNA, células de riñón embrionario humano (HEK) como 293, 293 EBNA o MSR 293, 10 células epidérmicas humanas A431, células Colo205 humanas, otras líneas celulares de primates transformadas, células diploides normales, cepas celulares derivadas de cultivo in vitro de tejido primario, explantes primarios, células HL-60, U937, HaK o Jurkat. Opcionalmente, las líneas celulares de mamíferos tales como HepG2/3B, KB, NIH 3T3 o S49, por ejemplo, se pueden utilizar para la expresión del polipéptido cuando es deseable 15 utilizar el polipéptido en diversos ensayos de transducción de señales o reporteros. Alternativamente, es posible producir el polipéptido en eucariotas inferiores como levadura o en procariotas como bacterias. Las levaduras adecuadas incluyen *P. pastoris*, *S. cerevisiae*, *S. pombe*, cepas *Kluyveromyces*, *Candida* o cualquier cepa de levadura capaz de expresar polipéptidos heterólogos. Las cepas bacterianas adecuadas incluyen *E. coli*, 20 *B. subtilis*, *S. typhimurium* o cualquier cepa bacteriana capaz de expresar polipéptidos heterólogos. Si la proteína de fusión se elabora en levadura o bacteria, puede ser deseable modificar el producto producido allí, por ejemplo, mediante fosforilación o glicosilación de los sitios apropiados, para obtener un producto funcional. Tales uniones covalentes se pueden lograr utilizando métodos químicos o enzimáticos conocidos.

25 Los métodos para introducir vectores de expresión que contienen las secuencias de polinucleótidos de interés varían dependiendo del tipo de huésped celular. Por ejemplo, la transfección con cloruro de calcio se utiliza comúnmente para células procariotas, mientras que el tratamiento con fosfato de calcio o la electroporación se pueden utilizar para otros huéspedes celulares. Otros métodos incluyen, por ejemplo, 30 electroporación, tratamiento con fosfato cálcico, transformación mediada por liposomas, inyección y microinyección, métodos balísticos, virosomas, inmunoliposomas, polimerización: conjugados de ácido nucleico, ADN desnudo, viriones artificiales, fusión con la proteína estructural del virus del herpes VP22, agente-captación mejorada de ADN y transducción ex vivo. Para la producción de alto rendimiento a largo plazo de proteínas recombinantes, 35 a menudo se deseará una expresión estable. Por ejemplo, las líneas celulares que expresan de forma estable proteínas modificadas por ingeniería pueden prepararse utilizando vectores de expresión de la descripción que contienen orígenes virales de

5 replicación o elementos de expresión endógenos y un gen marcador seleccionable. Después de la introducción del vector, se puede permitir que las células crezcan durante 1–2 días en un medio enriquecido antes de cambiarlas a un medio selectivo. El propósito del marcador seleccionable es conferir resistencia a la selección, y su presencia permite el crecimiento de células que expresan con éxito las secuencias introducidas en medios
10 selectivos. Las células resistentes, transfectadas de forma estable pueden proliferar utilizando técnicas de cultivo de tejidos apropiadas para el tipo de célula.

Las proteínas de fusión se recuperan típicamente del medio de cultivo como un polipéptido secretado, aunque también pueden recuperarse del lisado de la célula huésped cuando se producen directamente sin una señal secretora. Si el polipéptido está
15 unido a la membrana, se puede liberar de la membrana utilizando una solución de detergente adecuada (por ejemplo, Triton–X 100).

Cuando la proteína de fusión se produce en una célula recombinante distinta de una de origen humano, está completamente libre de proteínas o polipéptidos de origen humano. Sin embargo, es necesario purificar la proteína de fusión a partir de proteínas o
20 polipéptidos de células recombinantes. Como primer paso, el medio de cultivo o el lisado normalmente se centrifuga para eliminar los restos celulares en partículas. Las moléculas producidas se pueden purificar convenientemente mediante cromatografía de hidroxapatita, electroforesis en gel, diálisis o cromatografía de afinidad, siendo la cromatografía de afinidad la técnica de purificación preferida. Otras técnicas para la
25 purificación de proteínas como el fraccionamiento en una columna de intercambio iónico, precipitación con etanol, HPLC de fase inversa, cromatografía en sílice, cromatografía en heparina Sepharose, cromatografía en una resina de intercambio aniónico o catiónico (como una columna de ácido poliaspártico), cromatografía de exclusión, también están disponibles SDS–PAGE y precipitación con sulfato de amonio.

30 En ciertos aspectos, en el presente documento se proporciona un vector viral que comprende un polinucleótido que codifica una proteína de fusión terapéutica de la presente invención. En algunas modalidades, el vector viral se deriva de AAV. En algunas modalidades, el vector viral se administra a un sujeto, por ejemplo, un ser humano, en donde se expresa la proteína de fusión terapéutica, y se puede utilizar para el tratamiento
35 y/o prevención de las enfermedades enumeradas en el presente documento.

Composiciones farmacéuticas

5 En otro aspecto, la presente descripción proporciona una composición, por ejemplo, una composición farmacéutica, que contiene una proteína de fusión terapéutica de la presente invención, en combinación con uno o más excipientes, diluyentes o portadores farmacéuticamente aceptables. Tales composiciones pueden incluir una o una combinación de (por ejemplo, dos o más diferentes) proteínas de fusión terapéuticas de la descripción.

10 Las composiciones farmacéuticas como se describen en el presente documento también se pueden administrar en terapia de combinación, es decir, combinadas con otros agentes. Por ejemplo, la terapia de combinación puede incluir una proteína de fusión de la presente descripción combinada con, por ejemplo, al menos un agente antiinflamatorio, antiinfeccioso o inmunosupresor. Los ejemplos de agentes terapéuticos que se pueden utilizar en terapia de combinación se describen con mayor detalle a continuación en la sección sobre usos de las proteínas de fusión terapéuticas de la descripción.

15 Para preparar composiciones farmacéuticas o estériles que incluyen una proteína de fusión de la presente descripción, la proteína de fusión se mezcla con un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

20 La frase "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora de un gobierno federal o estatal, o incluido en la Farmacopea de los Estados Unidos u otra farmacopea generalmente reconocida para uso en animales, y más particularmente, en seres humanos.

25 El término "composición farmacéutica" se refiere a una mezcla de al menos un ingrediente activo (por ejemplo, una proteína diseñada) y al menos un excipiente, diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.

Un "medicamento" se refiere a una sustancia utilizada para tratamiento médico.

30 Como se utiliza en el presente documento, "portador farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de los solventes, medios de dispersión, revestimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardadores de la absorción, y similares que sean fisiológicamente compatibles. El portador debe ser adecuado para administración intravenosa, intramuscular, subcutánea, parenteral, espinal o epidérmica (por ejemplo, mediante inyección o infusión). En una modalidad, el portador debería ser adecuado para la vía subcutánea. Dependiendo de la vía de administración, el compuesto activo, es decir, la proteína de fusión, se puede recubrir con un material para

5 proteger el compuesto de la acción de los ácidos y otras condiciones naturales que pueden inactivar el compuesto.

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden incluir una o más sales farmacéuticamente aceptables. Una composición farmacéutica como se describe en este documento también puede incluir un antioxidante
10 farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de sodio y similares; antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo,
15 alfa-tocoferol y similares; y agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico y similares.

Ejemplos de portadores acuosos y no acuosos adecuados que se pueden emplear en las composiciones farmacéuticas como se describen en este documento incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares) y
20 mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva y ésteres orgánicos inyectables, como oleato de etilo. Se puede mantener la fluidez adecuada, por ejemplo, mediante el uso de materiales de revestimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones y mediante el uso de tensioactivos.

Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como
25 conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la presencia de microorganismos puede garantizarse tanto mediante procedimientos de esterilización como mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, ácido fenolsórbico y
30 similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio y similares en las composiciones. Además, se puede producir una absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable mediante la inclusión de agentes que retrasan la absorción, tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

Los portadores farmacéuticamente aceptables incluyen soluciones o dispersiones
35 acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es conocido en la técnica. Excepto en la medida en que

5 cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el compuesto activo, se contempla su uso en las composiciones farmacéuticas de la invención. También se pueden incorporar compuestos activos suplementarios en las composiciones.

Las composiciones terapéuticas típicamente deben ser estériles y estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición se puede formular como
10 una solución, microemulsión, liposoma u otra estructura ordenada adecuada para una alta concentración de fármaco. El portador puede ser un solvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido y similares) y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de un revestimiento tal como
15 lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y mediante el uso de tensioactivos. En muchos casos, se pueden incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes como manitol, sorbitol o cloruro de sodio en la composición.

Se pueden encontrar reseñas sobre el desarrollo de formulaciones de proteínas estables en Cleland *et al.*, (1993) Crit Reviews Ther Drug Carrier Systems, 10(4): 307–377
20 and Wei W (1999) Int J Pharmaceutics, 185: 129–88.

Las soluciones o suspensiones utilizadas para la aplicación intradérmica o subcutánea normalmente incluyen uno o más de los siguientes componentes: un diluyente estéril como agua para inyección, solución salina, aceites fijos, polietilenglicoles, glicerina,
25 propilenglicol u otros solventes sintéticos, agentes antibacterianos como alcohol bencílico o metil parabenos, antioxidantes como ácido ascórbico o bisulfito de sodio, agentes quelantes como ácido etilendiaminotetraacético, buffers como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de la tonicidad como cloruro de sodio o dextrosa. El pH se puede ajustar con ácidos o bases, como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. Tales
30 preparaciones pueden encerrarse en ampollas, jeringas desechables o viales de dosis múltiples hechos de vidrio o plástico.

Pueden prepararse soluciones inyectables estériles incorporando el compuesto activo en la cantidad requerida en un solvente apropiado con uno o una combinación de los ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de microfiltración
35 de esterilización. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando las proteínas de fusión de la invención en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso

5 de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación son secado al vacío y secado en frío (liofilización) que producen un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado de una solución previamente esterilizada filtrada del mismo.

10 La cantidad de ingrediente activo que puede combinarse con un material portador para producir una única forma de dosificación variará dependiendo del sujeto que se esté tratando y el modo particular de administración. La cantidad de ingrediente activo que puede combinarse con un material portador para producir una única forma de dosificación será generalmente la cantidad de la composición que produce un efecto terapéutico. Generalmente, del cien por ciento, esta cantidad variará de aproximadamente un 0,01 por
15 ciento a aproximadamente un noventa y nueve por ciento de ingrediente activo, de aproximadamente un 0,1 por ciento a aproximadamente un 70 por ciento, o de aproximadamente un 1 por ciento a aproximadamente un 30 por ciento de ingrediente activo en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable.

La selección de un régimen de administración para una proteína de ingeniería
20 terapéutica depende de varios factores, incluida la tasa de recambio sérico o tisular de la entidad, el nivel de síntomas, la inmunogenicidad de la entidad y la accesibilidad de las células objetivo en la matriz biológica. En ciertas modalidades, un régimen de administración maximiza la cantidad de terapéutico administrado al paciente de acuerdo con un nivel aceptable de efectos secundarios. Por consiguiente, la cantidad de proteína
25 administrada depende en parte de la entidad particular y la gravedad de la afección que se está tratando. Se dispone de orientación para seleccionar las dosis apropiadas de moléculas biológicas y pequeñas (véase, por ejemplo, Bach (ed.) (1993) *Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases*, Marcel Dekker, New York, N.Y.; Baert, et al. (2003) *New Engl. J. Med.* 348:601–608; Milgrom, et al. (1999) *New Engl. J. Med.* 341:1966–1973; Slamon, et al. (2001) *New Engl. J. Med.* 344:783–792; Beniaminovitz, et al. (2000) *New Engl. J. Med.* 342:613–619; Ghosh, et al. (2003) *New Engl. J. Med.* 348:24–32; Lipsky, et al. (2000) *New Engl. J. Med.* 343:1594–1602).

La determinación de la dosis apropiada la realiza el médico, por ejemplo, utilizando parámetros o factores conocidos o sospechados en la técnica que afectan al tratamiento o
35 se prevé que afecten al tratamiento. Generalmente, la dosis comienza con una cantidad algo menor que la dosis óptima y luego se incrementa en pequeños incrementos hasta que se logra el efecto deseado u óptimo en relación con cualquier efecto secundario

5 negativo. Las medidas de diagnóstico importantes incluyen las de los síntomas de, por ejemplo, la inflamación o el nivel de citocinas inflamatorias producidas.

Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de la presente descripción se pueden variar para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un
10 paciente, composición y modo de administración en particular, sin que sea tóxico para el paciente. El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores farmacocinéticos que incluyen la actividad de las composiciones particulares de la presente descripción empleadas, la vía de administración, el tiempo de administración, la velocidad de excreción del compuesto particular que se emplea, la duración del
15 tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales utilizados en combinación con las composiciones particulares empleadas, la edad, sexo, peso, estado, salud general e historial médico previo del paciente que está siendo tratado, y factores similares conocidos en la técnica médica.

Los regímenes de dosificación se ajustan para proporcionar la respuesta óptima
20 deseada. Por ejemplo, se puede administrar un solo bolo, se pueden administrar varias dosis divididas a lo largo del tiempo o la dosis se puede reducir o aumentar proporcionalmente según lo indiquen las exigencias de la situación terapéutica. Es especialmente ventajoso formular composiciones parenterales en forma de unidad de dosificación para facilitar la administración y uniformidad de la dosificación. La forma de
25 unidad de dosificación, como se utiliza en el presente documento, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para los sujetos a tratar; cada unidad contiene una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el portador farmacéutico requerido. La especificación para las formas unitarias de dosificación de la invención está
30 dictada y depende directamente de las características únicas del compuesto activo y el efecto terapéutico particular que se debe lograr, y las limitaciones inherentes en la técnica de la composición de dicho compuesto activo para el tratamiento de sensibilidad en los individuos.

Para la administración de la proteína de fusión terapéutica, la dosis varía de
35 aproximadamente 0,0001 a 150 mg/kg, tal como 5, 15 y 50 mg/kg de administración subcutánea, y más habitualmente de 0,01 a 5 mg/kg, del peso corporal del huésped. Un régimen de tratamiento ejemplar implica la administración una vez por semana, una vez

5 cada dos semanas, una vez cada tres semanas, una vez cada cuatro semanas, una vez al mes, una vez cada 3 meses o una vez cada tres a seis meses.

Las proteínas de fusión terapéuticas de la invención se pueden administrar en múltiples ocasiones. Los intervalos entre dosis únicas pueden ser, por ejemplo, semanales, mensuales, cada tres meses o anualmente. Los intervalos también pueden
10 ser irregulares, como se indica midiendo los niveles sanguíneos de proteína diseñada en el paciente. En algunos métodos, la dosis se ajusta para conseguir una concentración de proteína plasmática de aproximadamente 1–1000 µg/mL y en algunos métodos de aproximadamente 25–300 µg/mL.

Alternativamente, la proteína de fusión terapéutica se puede administrar como una
15 formulación de liberación sostenida, en cuyo caso se requiere una administración menos frecuente. La dosis y la frecuencia varían en función de la vida media de la proteína en el paciente y pueden variar según el tratamiento sea profiláctico o terapéutico. En aplicaciones profilácticas, se administra una dosis relativamente baja a intervalos relativamente infrecuentes durante un largo período de tiempo. Algunos pacientes pueden
20 continuar recibiendo tratamiento por el resto de sus vidas. En aplicaciones terapéuticas, a veces se requiere una dosis relativamente alta a intervalos relativamente cortos hasta que se reduce o termina la progresión de la afección o enfermedad o hasta que el paciente muestra una mejoría parcial o completa de los síntomas de la afección o enfermedad. Posteriormente, se puede administrar al paciente un régimen profiláctico.

25 Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden variar para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composición y modo de administración en particular, sin que sea tóxico para el paciente. El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores
30 farmacocinéticos que incluyen la actividad de las composiciones particulares de la presente descripción empleadas, la vía de administración, el tiempo de administración, la velocidad de excreción del compuesto particular que se emplea, la duración de la tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales utilizados en combinación con las composiciones particulares empleadas, la edad, sexo, peso, estado, salud general e
35 historial médico previo del paciente que está siendo tratado, y factores similares bien conocidos en la técnica médica.

Una "dosis terapéuticamente eficaz" de una proteína de fusión de la invención

5 puede dar como resultado una disminución de la gravedad de una afección o síntomas o una enfermedad y/o la prevención del deterioro o discapacidad debido a la afección.

Una composición de la presente descripción puede administrarse mediante una o más vías de administración utilizando uno o más de una variedad de métodos conocidos en la técnica. Como apreciará el experto en la técnica, la vía y/o el modo de
10 administración variarán dependiendo de los resultados deseados. Las vías de administración para las proteínas modificadas genéticamente de la invención incluyen vías de administración intravenosa, intramuscular, intradérmica, intraperitoneal, subcutánea, espinal u otras vías de administración parenterales, por ejemplo, mediante inyección o infusión. La frase "administración parenteral", como se utiliza en este
15 documento, significa modos de administración distintos de la administración enteral y tópica, normalmente por inyección, e incluye, sin limitación, inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal, epidural e intraesternal.

20 Alternativamente, una proteína de fusión terapéutica de la invención puede administrarse por una vía no parenteral, tal como una vía de administración tópica, epidérmica o mucosa.

Las proteínas de fusión terapéuticas de la descripción se pueden preparar con portadores que protegerán las proteínas contra una liberación rápida, como una
25 formulación de liberación controlada, que incluye implantes, parches transdérmicos y sistemas de administración microencapsulados. Se pueden utilizar polímeros biodegradables y biocompatibles, tales como etilenvinilacetato, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Los métodos para la preparación de tales formulaciones están patentados o son generalmente conocidos por los expertos
30 en la técnica. Véase, por ejemplo, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978.

En determinadas modalidades, las proteínas de fusión terapéuticas de la invención se pueden formular para asegurar una distribución adecuada *in vivo*. Por ejemplo, la barrera hematoencefálica (BBB) excluye muchos compuestos altamente hidrófilos. Para
35 asegurar que los compuestos terapéuticos de la invención crucen la BBB (si se desea), se pueden formular, por ejemplo, en liposomas. Para métodos de fabricación de liposomas, véanse, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos 4.522.811; 5.374.548; y 5.399.331.

5 Los liposomas pueden comprender uno o más restos que se transportan selectivamente a células u órganos específicos, mejorando así la administración de fármacos dirigida (véase, por ejemplo, Ranade VV (1989) J. Clin. Pharmacol., 29: 685).

Usos terapéuticos y métodos de la invención.

10 Las proteínas de fusión terapéuticas de la presente invención tienen utilidades terapéuticas y de diagnóstico *in vitro* e *in vivo*. Por ejemplo, estas moléculas se pueden administrar a células en cultivo, por ejemplo *in vitro* o en un sujeto, por ejemplo, *in vivo*, para tratar, prevenir o diagnosticar una variedad de trastornos. Los métodos son particularmente adecuados para tratar, prevenir o diagnosticar trastornos de órganos y microvasculares agudos o crónicos inflamatorios e impulsados por el sistema inmunitario.

15 Las proteínas de fusión terapéuticas de la invención, aunque no se limitan a, son útiles para el tratamiento, prevención o mejora de lesiones orgánicas inflamatorias agudas y crónicas, en particular lesiones inflamatorias en las que existen mecanismos de depuración homeostáticos endógenos o vías de eferocitosis para la eliminación de células moribundas, fragmentos de células y las micropartículas protrombóticas/proinflamatorias
20 están significativamente reguladas por disminución. Ejemplos de lesiones de órganos inflamatorias agudas incluyen infarto de miocardio, lesión renal aguda (AKI), accidente cerebrovascular agudo e inflamación y lesiones de órganos resultantes de isquemia/reperfusión tales como isquemia/reperfusión del tracto gastrointestinal, hígado, bazo, pulmón, riñón, páncreas, corazón, cerebro, médula espinal y/o extremidad
25 aplastada.

Las proteínas de fusión terapéuticas de la descripción también pueden ser útiles para el diagnóstico, tratamiento, prevención o mejora de la inhibición o ralentización de la coagulación sanguínea, tratamiento del microbioma, enfermedad inflamatoria intestinal (IBD), captación de ácidos grasos y/o disminución de la motilidad gástrica, trastornos
30 dependientes de microtrombina, aterosclerosis, remodelación cardíaca, fibrosis tisular, lesión hepática aguda, enfermedades hepáticas crónicas, esteatohepatitis no alcohólica (NASH), enfermedades vasculares, trastornos vasculares relacionados con la edad, enfermedades intestinales, sepsis, trastornos óseos, cáncer, talasemia, pancreatitis, hepatitis, endocarditis, neumonía, lesión pulmonar aguda, osteoartritis, periodontitis,
35 inflamación inducida por traumatismo tisular, colitis, diabetes, shock hemorrágico, rechazo de trasplante, daño inducido por radiación, esplenomegalia, AKI inducida por sepsis o insuficiencia multiorgánica, quemaduras agudas, síndrome de dificultad respiratoria en

5 adultos y niños, cicatrización de heridas, reparación de tendones y enfermedades neurológicas.

En una modalidad, las enfermedades neurológicas se pueden seleccionar entre afecciones que tienen un componente neuropsiquiátrico, neuroinflamatorio y/o neurodegenerativo que incluye síntomas tales como síndromes de enfermedad, náuseas,
10 evitación pasiva, supresión de la agilidad conductual, alteración de la memoria y disfunción de la memoria. Ejemplos de enfermedades neurológicas incluyen enfermedades neurológicas relacionadas con la beta amiloide, como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson y la depresión.

En una modalidad, los trastornos óseos pueden seleccionarse de afecciones que
15 incluyen osteoporosis, osteomalacia, osteoesclerosis y osteopetrosis. Más particularmente, la administración de una proteína de fusión de la presente descripción puede inhibir la expresión de al menos un marcador de osteoclasto, tal como NFATc1, catepsina K e integrina $\alpha\beta3$. En una modalidad, la administración inhibe la osteoclastogénesis. En otra modalidad, la administración inhibe la osteoclastogénesis
20 inducida por RANKL. En otra modalidad más, la administración inhibe la resorción ósea. En incluso otra modalidad, la administración inhibe la expresión de al menos un estimulador de resorción ósea, tal como un estimulador de resorción ósea que comprende TNF, IL-6, IL-17A, MMP-9, Ptgs2, RANKL, Tnfsf11, CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL5 y combinaciones de los mismos. En otra modalidad, la administración inhibe la expresión de
25 al menos una citoquina proinflamatoria seleccionada del grupo que consiste en IL-8 y CCL2/MCP-1.

En una modalidad, la fibrosis tisular puede ser fibrosis en el hígado, pulmón, diafragma, riñón, cerebro, corazón en la que la proteína de fusión de la invención reduce la expresión de colágeno. En una modalidad, la fibrosis pulmonar es fibrosis pulmonar
30 intersticial (IPF). En una modalidad, la fibrosis hepática es cirrosis hepática, que puede o no ser atribuible a NASH.

Múltiples enfermedades respiratorias se caracterizan por la acumulación de células apoptóticas. Además, la eferocitosis defectuosa y la fagocitosis por macrófagos en el trastorno pulmonar obstructivo crónico (EPOC) se asocian con exacerbaciones y
35 gravedad. Las proteínas de fusión terapéuticas de la descripción también pueden ser útiles para el diagnóstico, tratamiento, prevención o mejora de enfermedades respiratorias, tales como el síndrome de dificultad respiratoria aguda o COPD. Las

5 proteínas de fusión terapéuticas de la descripción también pueden ser útiles para el diagnóstico, tratamiento, prevención o mejora de la lesión pulmonar aguda (ALI), por ejemplo lesión pulmonar inducida por inhalación o aspiración de compuestos o fármacos tóxicos exógenos o endógenos; lesión pulmonar causada por edema pulmonar, shock, pancreatitis, quemaduras, traumatismos del tórax o politraumatismos, radiación, sepsis,
10 patógenos (bacterias, virus o parásitos como plasmodios); Enfermedades por insuficiencia pulmonar crónica que provocan hipoxemia.

Las proteínas de fusión terapéuticas de la descripción también pueden ser útiles para el diagnóstico, tratamiento, prevención o mejora de la gravedad de la lesión pulmonar causada por virus del tipo Corona, por ejemplo SARS-CoV, SARS-CoV-2 o
15 MERS-CoV. En una modalidad, las proteínas de fusión terapéuticas de la descripción se proporcionan para su uso en el tratamiento de la infección por SARS-CoV-2 en pacientes con COVID 19.

Las proteínas de fusión terapéuticas de la descripción también pueden ser útiles para el diagnóstico, tratamiento, prevención o mejora de la gravedad de la insuficiencia
20 pulmonar asociada a transfusión (TRALI).

Las proteínas de fusión terapéuticas de la descripción también pueden ser útiles para el diagnóstico, tratamiento, prevención o mejora de la gravedad de enfermedades de insuficiencia pulmonar crónica que conducen a hipoxemia.

Las proteínas de fusión terapéuticas de la descripción, por ejemplo las proteínas
25 de fusión terapéuticas contienen un dominio de EDIL3 de la descripción, también pueden ser útiles para el diagnóstico, tratamiento, prevención o mejora de la gravedad de las adherencias peritoneales posoperatorias.

Las proteínas de fusión terapéuticas de la descripción también pueden ser útiles para el diagnóstico, tratamiento, prevención o mejora de la gravedad de la insuficiencia
30 cardíaca.

Las proteínas de fusión terapéuticas de la descripción también pueden ser útiles para el diagnóstico, tratamiento, prevención o mejora de la gravedad de la hemodiálisis.

Las proteínas de fusión terapéuticas de la descripción también pueden ser útiles para el diagnóstico, el tratamiento, la prevención o la mejora de la gravedad de la función
35 retardada del injerto o de la enfermedad del injerto contra el huésped.

5 Las proteínas de fusión terapéuticas de la descripción también pueden ser útiles para el diagnóstico, tratamiento, prevención o mejora de la gravedad de congelaciones graves, pie de trinchera, pioderma gangrenoso/gangrena.

Las proteínas de fusión terapéuticas de la descripción también pueden ser útiles para el diagnóstico, tratamiento, prevención o mejora de la gravedad de patologías
10 inducidas por bacterias, hongos, virus o parásitos (por ejemplo, sepsis u otras patologías inducidas directamente por los patógenos como en ántrax, plaga, infecciones necrotizantes de tejidos blandos (NSTI como fascitis necrotizante, osteomielitis, malaria).

Las proteínas de fusión terapéuticas de la descripción también pueden ser útiles para el diagnóstico, tratamiento, prevención o mejora de la gravedad del
15 trauma/politraumatismo causado por accidentes que causan lesiones, como accidentes laborales, caídas, accidentes de tráfico, lesiones balísticas y de combate u otros mecanismos de lesión.

Las proteínas de fusión terapéuticas de la descripción también pueden ser útiles para el diagnóstico, tratamiento, prevención o mejora de la gravedad de la patología
20 mediada por osteoclastos.

Las proteínas de fusión terapéuticas de la descripción se pueden administrar como el único ingrediente activo o junto con, por ejemplo como adyuvante o en combinación con otros fármacos, por ejemplo agentes inmunosupresores o inmunomoduladores u otros
25 agentes antiinflamatorios o por ejemplo agentes citotóxicos o anticancerígenos, por ejemplo para el tratamiento o prevención de las enfermedades mencionadas anteriormente.

Administrado 'en combinación', en referencia a un agente terapéutico adicional, significa que se administran dos (o más) tratamientos diferentes al sujeto durante el curso de la aflicción del sujeto con el trastorno, por ejemplo, los dos o más tratamientos se
30 administran después de que el sujeto se ha diagnosticado con el trastorno y antes de que el trastorno se haya curado o eliminado o el tratamiento haya cesado por otras razones. En algunas modalidades, la administración de un tratamiento todavía se está produciendo cuando comienza la administración del segundo, de modo que hay superposición en términos de administración. Esto a veces se denomina en el presente documento
35 "administración simultánea" o "administración concurrente". En otras modalidades, la administración de un tratamiento termina antes de que comience la administración del otro tratamiento. En algunas modalidades de cualquier caso, el tratamiento es más eficaz

5 debido a la administración combinada. Por ejemplo, el segundo tratamiento es más
efectivo, por ejemplo, se observa un efecto equivalente con menos del segundo
tratamiento, o el segundo tratamiento reduce los síntomas en mayor medida que lo que se
vería si el segundo tratamiento se administrara en ausencia del primer tratamiento, o la
situación análoga se ve con el primer tratamiento. En algunas modalidades, la
10 administración es tal que la reducción de un síntoma u otro parámetro relacionado con el
trastorno es mayor de lo que se observaría con un tratamiento administrado en ausencia
del otro. El efecto de los dos tratamientos puede ser parcialmente aditivo, totalmente
aditivo o mayor que aditivo. La administración puede ser tal que un efecto del primer
tratamiento administrado aún sea detectable cuando se administra el segundo.

15 El término 'concurrentemente' no se limita a la administración de terapias (por
ejemplo, agentes profilácticos o terapéuticos) exactamente al mismo tiempo, sino que
significa que una composición farmacéutica que comprende proteínas de fusión
terapéuticas de las mismas de la presente descripción se administra a un sujeto en una
secuencia y dentro de un intervalo de tiempo tal que las proteínas de fusión puedan
20 actuar junto con el agente o agentes terapéuticos adicionales para proporcionar un mayor
beneficio que si se administraran de otro modo. Por ejemplo, cada terapia puede
administrarse a un sujeto al mismo tiempo o secuencialmente en cualquier orden en
diferentes momentos; sin embargo, si no se administran al mismo tiempo, deben
administrarse lo suficientemente cerca en el tiempo como para proporcionar el efecto
25 terapéutico o profiláctico deseado. Cada terapia se puede administrar a un sujeto por
separado, en cualquier forma apropiada y por cualquier vía adecuada.

Una proteína de fusión terapéutica como se describe en el presente documento, y
el agente o agentes terapéuticos adicionales se pueden administrar simultáneamente, en
la misma composición farmacéutica o en una composición separada que la proteína de
30 fusión descrita, o secuencialmente. Para la administración secuencial, la proteína de
fusión como se describe en el presente documento, se puede administrar en primer lugar
y el agente adicional se puede administrar en segundo lugar, o se puede invertir el orden
de administración. El agente o agentes terapéuticos adicionales pueden administrarse a
un sujeto por la misma o diferentes vías de administración en comparación con la proteína
35 de fusión.

La proteína de fusión terapéutica como se describe en este documento, y/o agente
o agentes, procedimientos o modalidades terapéuticas adicionales se pueden administrar

5 durante períodos de trastorno activo, o durante un período de remisión o enfermedad menos activa. La proteína de fusión terapéutica, como se describe en el presente documento, se puede administrar antes del otro tratamiento, al mismo tiempo que el tratamiento, después del tratamiento o durante la remisión del trastorno.

10 Cuando se administra en combinación, la proteína de fusión terapéutica como se describe en este documento, y el agente terapéutico adicional (por ejemplo, el segundo o tercer agente), o todos, pueden administrarse en una cantidad o dosis que es mayor, menor o igual que la cantidad o dosis de cada agente utilizado individualmente, por ejemplo, como monoterapia. En ciertas modalidades, la proteína de fusión terapéutica como se describe en el presente documento, el agente adicional (por ejemplo, segundo o
15 tercer agente), o todos, es menor (por ejemplo, al menos 20%, al menos 30%, al menos 40% o al menos 50%) que la cantidad o dosis de cada agente utilizado individualmente, por ejemplo, como monoterapia. En otras modalidades, la cantidad o dosis de la proteína de fusión terapéutica como se describe en este documento, el agente adicional (por ejemplo, el segundo o tercer agente), o todos, que da como resultado un efecto deseado
20 (por ejemplo, el tratamiento de una enfermedad o afección inflamatoria) es menor (por ejemplo, al menos 20%, al menos 30%, al menos 40% o al menos 50% menor) que la cantidad o dosis de cada agente utilizado individualmente, por ejemplo, como monoterapia, necesaria para lograr el mismo efecto terapéutico.

Por ejemplo, las proteínas de fusión terapéuticas de la descripción se pueden
25 utilizar en combinación con DMARD, por ejemplo sales de oro, sulfasalazina, antimaláricos, metotrexato, D-penicilamina, azatioprina, ácido micofenólico, tacrolimus, sirolimus, minociclina, leflunomida, glucocorticoides; un inhibidor de calcineurina, por ejemplo ciclosporina A o FK 506; un modulador de la recirculación de linfocitos, por ejemplo análogos FTY720 y FTY720; un inhibidor de mTOR, por ejemplo rapamicina, 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina, CCI779, ABT578, AP23573 o TAFA-93; una ascomicina que tiene propiedades inmunosupresoras, por ejemplo ABT-281, ASM981, etc.; corticosteroides; ciclofosfamida; azatioprina; leflunomida; mizoribina; micofenolato de mofetilo; 15-desoxispergualina o sus homólogo, análogo o derivado inmunosupresor; anticuerpos monoclonales inmunosupresores, por ejemplo, anticuerpos monoclonales
35 para receptores de leucocitos, por ejemplo, MHC, CD2, CD3, CD4, CD7, CD8, CD25, CD28, CD40, CD45, CD58, CD80, CD86 o sus ligandos; otros compuestos inmunomoduladores, por ejemplo una molécula de unión recombinante que tiene al

5 menos una parte del dominio extracelular de CTLA4 o un mutante del mismo, por ejemplo una porción al menos extracelular de CTLA4 o un mutante del mismo unido a una secuencia de proteína que no es CTLA4, por ejemplo CTLA4Ig (por ejemplo, denominado ATCC 68629) o un mutante del mismo, por ejemplo LEA29Y; inhibidores de moléculas de adhesión, por ejemplo antagonistas de LFA-1, antagonistas de ICAM-1 o -3, antagonistas de VCAM-4 o antagonistas de VLA-4; o un agente quimioterapéutico, por ejemplo paclitaxel, gemcitabina, cisplatino, doxorubicina o 5-fluoruracilo; agentes anti TNF, por ejemplo anticuerpos monoclonales contra TNF, por ejemplo infliximab, adalimumab, CDP870 o constructos de receptores para TNF-RI o TNF-RII, por ejemplo Etanercept, PEG-TNF-RI; bloqueadores de citocinas proinflamatorias, bloqueadores de IL-1, por ejemplo Trampa de Anakinra o IL-1, canakinumab, bloqueadores de IL-13, bloqueadores de IL-4, bloqueadores de IL-6; bloqueadores de quimiocinas, por ejemplo, inhibidores o activadores de proteasas, por ejemplo metaloproteasas, anticuerpos anti-IL-15, anticuerpos anti-IL-6, anticuerpos anti-IL-4, anticuerpos anti-IL-13, anticuerpos anti-CD20, AINE, tales como aspirina o un agente antiinfeccioso; antagonistas del patrón molecular asociado al daño (DAMP) o del patrón molecular asociado a patógenos (PAMP), por ejemplo convertidores, desintoxicantes, removedores, por ejemplo convertidores de ATP, moduladores de HMGB-1, desintoxicantes de histonas; inhibidores de respuestas inmunes inducidas por superantígenos; inhibidores del complemento y dispositivos de plasmaféresis extracorporeal.

25

Kits

También dentro del alcance de la invención están los kits que consisten en las composiciones, por ejemplo, proteínas de fusión terapéuticas de la descripción e instrucciones de uso. Dichos kits comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de una proteína de fusión de acuerdo con la divulgación. Además, dichos kits pueden comprender medios para administrar la proteína de fusión terapéutica (por ejemplo, un autoinyector, una jeringa y un vial, una jeringa precargada, una pluma precargada) e instrucciones de uso. Estos kits pueden contener agentes terapéuticos adicionales (descritos más adelante) para tratar a un paciente que tiene una enfermedad autoinmune o un trastorno inflamatorio o AOI. Dichos kits también pueden comprender instrucciones para la administración de la proteína de fusión terapéutica para tratar al paciente. Dichas instrucciones pueden proporcionar la dosis, la vía de administración, el régimen y la

5 duración total del tratamiento para su uso con la proteína de fusión incluida. Los kits
suelen incluir una etiqueta que indica el uso previsto del contenido del kit. El término
etiqueta incluye cualquier escritura o material grabado suministrado en o con el kit, o que
de otro modo acompañe al kit. El kit puede comprender además herramientas para
diagnosticar si un paciente pertenece a un grupo que responderá al tratamiento con una
10 proteína de fusión terapéutica de la presente invención, como se define anteriormente.

Modalidades

La presente descripción proporciona las siguientes modalidades:

1. Una proteína de fusión terapéutica para potenciar la eferocitosis que comprende
15 un dominio de unión a integrina, un dominio de unión a fosfatidilserina (PS) y un dominio
de solubilización.
2. La proteína de fusión de la modalidad 1, en donde el dominio de solubilización se
encuentra:
 - (i) unido al dominio de unión a integrina;
 - 20 (ii) unido al dominio de unión a PS;
 - (iii) insertado entre el dominio de unión a integrina y el dominio de unión a PS;
 - (iv) insertado en el dominio de unión a integrina; o
 - (v) insertado en el dominio de unión a PS.
3. La proteína de fusión de la modalidad 1 o la modalidad 2, en donde el dominio de
25 unión a integrina se une a una o más integrinas.
4. La proteína de fusión de la modalidad 3, en donde el dominio de unión a integrina
se une a la integrina $\alpha v\beta 3$ y/o $\alpha v\beta 5$ y/o $\alpha 8\beta 1$.
5. La proteína de fusión de la modalidad 3 o la modalidad 4, en donde el dominio de
unión a integrina comprende un motivo de arginina–glicina–ácido aspártico (RGD).
- 30 6. La proteína de fusión de una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde
el dominio de solubilización se une directamente al dominio de unión a integrina, al
dominio de unión a PS o a ambos dominios.
7. La proteína de fusión de una cualquiera de las modalidades 1 a 6, en donde el
dominio de solubilización está unido indirectamente al dominio de unión a integrina y/o al
35 dominio de unión a PS mediante un ligador.
8. La proteína de fusión de una cualquiera de las modalidades anteriores en donde el
dominio de solubilización comprende albúmina de suero humano (HSA), dominio 3 de

- 5 HSA (HSA D3), Fc-IgG o una variante funcional de los mismos.
9. La proteína de fusión de una cualquiera de las modalidades anteriores en donde el dominio de solubilización comprende albúmina de suero humano (HSA), o una variante funcional de la misma.
7. La proteína de fusión de una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde
10 el dominio de unión a integrina tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, o al menos un 90% de identidad de secuencia con la misma.
8. La proteína de fusión de una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el dominio de unión a PS tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3, o al menos un 90% de identidad de secuencia con la misma;
15 una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76, o al menos un 90% de identidad de secuencia con la misma.
9. La proteína de fusión de una cualquiera de las modalidades precedentes, en donde el dominio de solubilización es HSA y tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, o al menos un 90% de identidad de secuencia con la misma.
- 20 10. La proteína de fusión de una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el dominio de unión a integrina tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, o al menos un 90% de identidad de secuencia con la misma y el dominio de unión a PS tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 78, o al menos un 90% de identidad de secuencia con la misma.
- 25 11. La proteína de fusión de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el dominio de unión a la integrina tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 77, o al menos un 90% de identidad de secuencia con la misma y el dominio de unión a PS tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3, o de SEQ ID NO: 76, o al menos 90% de identidad de secuencia con la misma.
- 30 12. La proteína de fusión de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicha proteína de fusión:
- a. promueve la eferocitosis por las células endoteliales en un ensayo de eferocitosis de células endoteliales humanas–células Jurkat;
 - b. restaura la eferocitosis alterada de macrófagos en un ensayo de eferocitosis de
35 neutrófilos y macrófagos humanos;
 - c. reduce el número de micropartículas plasmáticas por depuración en un ensayo de eferocitosis de micropartículas endoteliales humanas; y/o

- 5 d. protege contra lesiones multiorgánicas en un modelo de lesión renal aguda.
13. La proteína de fusión de una cualquiera de las modalidades anteriores que comprende en secuencia: un dominio de unión a integrina–dominio de unión a HSA–PS.
14. Una proteína de fusión terapéutica que comprende MFG–E8 y un dominio de solubilización, en donde MFG–E8 comprende desde el N–terminal al C–terminal: un
- 10 dominio similar a EGF, un dominio C1 y un dominio C2, y comprende una secuencia de MFG–E8 humana de tipo salvaje (SEQ ID NO: 1), o MFG–E8 que tiene SEQ ID NO: 75, o su variante funcional.
15. La proteína de fusión de la modalidad 14, en donde el dominio de solubilización se inserta entre el dominio similar a EGF y el dominio C1.
- 15 16. La proteína de fusión de la modalidad 14 o la modalidad 15, en donde el dominio de solubilización es HSA, HSA D3 o Fc–IgG, o su variante funcional.
17. La proteína de fusión de una cualquiera de las modalidades 1–16, en donde la proteína diseñada tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42, o al menos un 90% de identidad de secuencia con la misma.
- 20 18. La proteína de fusión de una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la proteína de fusión tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44, o al menos un 90% de identidad de secuencia con la misma; o SEQ ID NO: 47, o al menos un 90% de identidad de secuencia con la misma; o SEQ ID NO: 48, o al menos un 90% de identidad de secuencia con la misma.
- 25 19. La proteína de fusión de una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la proteína de fusión tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80, o al menos un 90% de identidad de secuencia con la misma.
20. La proteína de fusión de una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la proteína de fusión tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 82, o al menos
- 30 un 90% de identidad de secuencia con la misma.
21. Un ácido nucleico aislado que codifica la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las modalidades 17 a 20.
22. Un vector de clonación o expresión que comprende el ácido nucleico de acuerdo con la modalidad 21.
- 35 23. Un vector viral que comprende el ácido nucleico aislado de acuerdo con la modalidad 21, de modo preferente el vector viral que comprende el ácido nucleico aislado de acuerdo con la modalidad 21 se deriva de AAV.

- 5 24. El vector viral de acuerdo con la modalidad 23, en donde el vector se administra a un sujeto, por ejemplo, un sujeto humano, que lo necesite.
25. El vector viral de acuerdo con la modalidad 23, para uso en el tratamiento y/o prevención de las enfermedades enumeradas en el presente documento.
26. Una célula huésped recombinante adecuada para la producción de una proteína
10 de fusión terapéutica, que comprende uno o más vectores de clonación o expresión de acuerdo con la modalidad 22 y opcionalmente, señales de secreción.
27. La célula huésped recombinante de la modalidad 26, en donde la célula huésped es por ejemplo una célula procariota, de levadura, de insecto o de mamífero.
28. La proteína de fusión de una cualquiera de las modalidades 1 a 20, en donde la
15 expresión de la proteína en una célula huésped da como resultado un rendimiento de al menos 10 mg/L.
29. La proteína de fusión de una cualquiera de las modalidades 1 a 20, en donde la expresión de la proteína en una célula de mamífero da como resultado un aumento en el rendimiento de al menos 100 veces con respecto a MFG-E8 de tipo salvaje (SEQ ID NO:
20 1).
30. Una composición farmacéutica que comprende la proteína de fusión de una cualquiera de las modalidades 1 a 20 y al menos un portador farmacéuticamente aceptable.
31. Un método de tratamiento o prevención de un trastorno inflamatorio o lesión
25 orgánica inflamatoria en un individuo que lo necesita, que comprende administrar al individuo una cantidad terapéuticamente eficaz de la proteína de fusión de cualquiera de las modalidades 1 a 20.
32. La proteína de fusión de una cualquiera de las modalidades 1 a 20 para su uso en el tratamiento o prevención de un trastorno inflamatorio o lesión orgánica inflamatoria en
30 un individuo que lo necesite.
33. El método de la modalidad 31 o el uso de la modalidad 32, en donde el trastorno inflamatorio o lesión orgánica inflamatoria es lesión renal aguda, sepsis, infarto de miocardio, accidente cerebrovascular agudo, quemaduras, lesión traumática y lesiones inflamatorias y de órganos resultantes de isquemia/reperfusión.
- 35 34. El método de la modalidad 31 o el uso de la modalidad 32, en donde el trastorno inflamatorio o la lesión orgánica inflamatoria es una lesión renal aguda.
35. El método de la modalidad 31 o el uso de la modalidad 32, en donde el trastorno

- 5 inflamatorio o la lesión orgánica inflamatoria es un infarto de miocardio,
36. El método de la modalidad 31 o el uso de la modalidad 32, en donde el trastorno inflamatorio o la lesión orgánica inflamatoria es un accidente cerebrovascular,
37. El método de la modalidad 31 o el uso de la modalidad 32, en donde el trastorno inflamatorio o la lesión orgánica inflamatoria es una lesión pulmonar aguda (por ejemplo,
- 10 síndrome de dificultad respiratoria aguda) o una lesión hepática o una lesión intestinal aguda.
38. El método de la modalidad 31 o el uso de la modalidad 32, en donde la proteína de fusión se administra en combinación con otro agente terapéutico.
39. El método o uso de la modalidad 38, en donde el otro agente terapéutico es un
- 15 agente inmunosupresor, un agente inmunomodulador, un agente antiinflamatorio, un antioxidante, un agente antiinfeccioso, un agente citotóxico o un agente anticanceroso.
40. Una proteína de fusión terapéutica que comprende MFG-E8 y un dominio de solubilización, en donde MFG-E8 comprende desde el N-terminal al C-terminal: un dominio similar a EGF, un dominio C1 y un dominio C2, y comprende una secuencia de
- 20 MFG-E8 humana de tipo salvaje (SEQ ID NO: 1), o de SEQ ID NO: 75, o su variante funcional.
41. La proteína de fusión de la modalidad 40, en donde el dominio de solubilización está unido al N-terminal o C-terminal del MFG-E8 (SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 75).
42. La proteína de fusión de la modalidad 40, en donde el dominio de solubilización se
- 25 inserta entre el dominio similar a EGF y el dominio C1.
43. La proteína de fusión de la modalidad 41, en donde el dominio de solubilización se inserta entre el dominio C1 y el dominio C2.
44. La proteína de fusión de una cualquiera de las modalidades 40 a 43, en donde el dominio solubilizante es HSA, HSA D3 o Fc-IgG, o una variante funcional de los mismos.
- 30 38. Un ácido nucleico aislado que codifica la proteína de fusión de una cualquiera de las modalidades 33–37.
39. Un vector de clonación o expresión que comprende el ácido nucleico de acuerdo con la modalidad 38.
40. Un vector viral que comprende el ácido nucleico aislado de acuerdo con la
- 35 modalidad 38, de modo preferente el vector viral que comprende el ácido nucleico aislado de acuerdo con la modalidad 38 se deriva de AAV.
41. El vector viral de acuerdo con la modalidad 40, en donde el vector se administra a

- 5 un sujeto, por ejemplo, un sujeto humano, que lo necesite.
42. El vector viral de acuerdo con la modalidad 40, para su uso en el tratamiento y/o prevención de las enfermedades enumeradas en el presente documento.
43. Una célula huésped recombinante adecuada para la producción de una proteína de fusión terapéutica, que comprende uno o más vectores de clonación o expresión de
10 acuerdo con la modalidad 39 y, opcionalmente, señales de secreción.
44. La célula huésped recombinante de la modalidad 43, en donde la célula huésped es por ejemplo una célula procariota, de levadura, de insecto o de mamífero.
45. La proteína de fusión de una cualquiera de las modalidades 33 a 37, en donde la expresión de la proteína en una célula huésped da como resultado un rendimiento de al
15 menos 10 mg/L.
46. La proteína de fusión de una cualquiera de las modalidades 33 a 37, en donde la expresión de la proteína en una célula de mamífero da como resultado un aumento en el rendimiento de al menos 100 veces con respecto a MFG-E8 de tipo salvaje.
- 20 Debe entenderse que cada modalidad puede combinarse con una o más de otras modalidades, en la medida en que dicha combinación sea coherente con la descripción de las modalidades. Debe entenderse además que se entiende que las modalidades proporcionadas anteriormente incluyen todas las modalidades, incluyendo tales modalidades como resultado de combinaciones de modalidades.
- 25 Todas las referencias citadas en este documento, incluidas patentes, solicitudes de patente, artículos, publicaciones, libros de texto y similares, y las referencias citadas en el mismo, en la medida en que aún no lo estén, se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad.

Ejemplos

- 30 Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar adicionalmente la descripción pero no para limitar su alcance. Otras variantes de la descripción serán evidentes para un experto en la técnica y están incluidas en las reivindicaciones adjuntas.

Ejemplo 1: Generación de proteínas de fusión

- 35 MFG-E8 es una proteína de múltiples dominios que consta de un dominio de factor de crecimiento epidérmico N-terminal (similar a EGF) y dos dominios C-terminales de tipo C de lectina (C1 y C2). Los intentos de producir proteína humana recombinante de

longitud completa, como se documenta en la literatura, han demostrado que los agregados de proteínas y las tasas de expresión son muy bajas (Castellanos *et al.*, (2016) Protein Expression Purification 1124: 10–22). Por lo tanto, para intentar solubilizar la proteína y potenciar su expresión, investigamos el efecto de fusionar varias proteínas a MFG–E8.

Un dominio de solubilización (SD) derivado de Fc–IgG1 humano, albúmina de suero humano (HSA) y el dominio 3 de HSA (HSA D3) se fusionaron en diferentes posiciones a MFG–E8; en el extremo N o C, o entre el EGF y los dominios C1 o C1 y C2, como se muestra esquemáticamente en la Figura 1. Además, las fusiones a Fc–IgG1 o HSA tienen el potencial de extender la vida media de la molécula *in vivo*, dado que estas proteínas se unen a FcRn. La fusión de MFG–E8 a Fc–IgG1 o HSA también puede mejorar la producción y solubilidad (Castellanos *et al.*, (2016) *supra*) de la proteína de fusión como se muestra en los siguientes ejemplos.

La Tabla 5 muestra la unión de la proteína de fusión FP330 (EGF–HSA–C1–C2; SEQ ID NO: 42) que comprende un inserto de HSA, al receptor Fc neonatal humano (véase también el Ejemplo 5.1).

Tabla 5: Afinidad de unión de la proteína de fusión FP330 al FcRn humano

Muestra	FcRn humano (pH 5,8)		FcRn humano (pH 7,4)	
	K _D (nM)	n	K _D (nM)	n
FP330 (SEQ ID NO: 42)	1380 ± 95	2	Sin unión	1

Ejemplo 2: Generación de fusiones HSA wtMFG–E8 y MFG–E8; expresión y purificación

Los métodos para la generación de proteínas de fusión se describen a continuación; en resumen, las fusiones de MFG–E8 y MFG–E8 y las fusiones de EDIL, en particular las fusiones a HSA, se generaron de acuerdo con el siguiente método.

El ADN se sintetizó en GeneArt (Regensburg, Alemania) y se clonó en un vector de expresión de mamífero utilizando técnicas de clonación basadas en ligadura de enzimas de restricción. El plásmido resultante se transfectó en células HEK293T. Para la expresión transitoria de proteínas, los vectores para cadenas de tipo salvaje o

5 manipuladas se transfectaron en células HEK293T adaptadas a la suspensión utilizando polietilenimina (PEI; Cat# 24765 Polysciences, Inc.). Típicamente, se transfectaron 100 mL de células en suspensión a una densidad de 1–2 millones de células por mL con ADN que contenía 100 µg de vectores de expresión que codifican las cadenas manipuladas. A continuación, se introdujeron los vectores de expresión recombinantes en las células
10 huésped y se produjo el constructo mediante el cultivo adicional de las células durante un período de 7 días para permitir la secreción en el medio de cultivo (HEK, medio libre de suero) suplementado con ácido plurónico al 0,1%. Glutamina 4 mM y 0,25 µg/mL de antibiótico.

A continuación, los constructos producidos se purificaron a partir del sobrenadante
15 libre de células, utilizando cromatografía de afinidad de iones metálicos inmovilizados (IMAC) o cromatografía de captura de proteína A o de captura anti-HSA.

Cuando la proteína marcada con his fue capturada por IMAC, el medio acondicionado filtrado se mezcló con resina IMAC (GE Healthcare), se equilibró con tritón al 1% y NaPO₄ 20 mM, NaCl 0,5 M, imidazol 20 mM, pH 7,0. La resina se lavó tres veces
20 con volúmenes de columna 15 de NaPO₄ 20 mM, NaCl 0,5 M, Imidazol 20 mM, pH 7,0 antes de eluir la proteína con volúmenes de columna 10 de buffer de elución (NaPO₄ 20 mM, NaCl 0,5 M, Imidazol 500 mM, pH 7,0).

Cuando la proteína se capturó mediante cromatografía de proteína A o anti-HSA, el medio acondicionado filtrado se mezcló con resina de proteína A (CaptivA PriMab™, Repligen) o resina anti-HSA (matriz de afinidad de albúmina humana Capture Select, Thermo), equilibrada con PBS, pH 7,4. La resina se lavó tres veces con volúmenes de
25 columna 15 de PBS, pH 7,4 antes de eluir la proteína con volúmenes de columna 10 de buffer de elución (citrato 50 mM, NaCl 90 mM, pH 2,5) y se neutralizó el pH utilizando TRIS 1 M pH 10,0.

30 Finalmente, las fracciones eluidas se purificaron utilizando cromatografía de exclusión por tamaño (HiPrep Superdex 200, 16/60, GE Healthcare Life Sciences) y se analizaron mediante SDS-PAGE frente a un marcador Precision Plus Protein Unstained Standards (Biorad, ref # 161-0363).

En la Figura 2 se muestran geles de expresión representativos para las proteínas
35 de fusión: Figura 2A: proteína EGF-HSA-C1-C2 (FP330; SEQ ID NO: 42); Fig. 2B: EGF-HSA-C1-C2 de la proteína EDIL3 (FP050; SEQ ID NO: 12); Fig 2C: proteína EGF-Fc (KiH) C1-C2 no reducida y reducida. Esta proteína es un heterodímero de FP071 (EGF-

5 Fc (botón)–C1–C2; SEQ ID NO: 18) con el ojal Fc–IgG1 (SEQ ID NO: 10); Fig. 2D: proteína EGF–HSA–C1 (FP260; SEQ ID NO: 34). La proteína en condiciones reducidas y no reducidas se muestra en la Fig. 2C porque los heterodímeros tienden a deshacerse en condiciones reductoras, por lo que se probaron ambas condiciones. Los resultados de la expresión y el rendimiento después de la purificación para un conjunto adicional de

10 proteínas de fusión se muestran en la Tabla 6; Como puede verse a partir de los datos de expresión, las fusiones de HSA de MFG–E8, incluso con HSA en diferentes posiciones, muestran al menos una mejora de 100 veces en la expresión sobre wtMFG–E8. Como se muestra en la columna de la derecha de la Tabla 6, las fusiones HSA de MFG–E8 también muestran un aumento en el rendimiento de al menos 100 veces con respecto a

15 wtMFG–E8.

Tabla 6: Expresión y rendimiento de proteínas de fusión expresadas en una línea celular HEK

Proteína	Expresión posterior a captura de His (mg/L)	Rendimiento final después de His y SEC (mg/L)
wtMFG–E8	0,2	0,04
FP220 (HSA–EGF–C1–C2)	23	5,5
FP110 (EGF–C1–C2–HSA)	34	7,8
FP330 (EGF–HSA–C1–C2)	23	4,0

Otros ejemplos de proteínas de fusión terapéuticas de la descripción se generaron de acuerdo con el método anterior y se analizaron adicionalmente mediante SDS–PAGE (electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio), donde las proteínas se separaron en base a su peso molecular. Cada proteína se mezcló con buffer Laemmli antes de cargar en gel de poliacrilamida (Biorad, 4–20% Mini–PROTEAN TGX Stain free). Después de 30 min de migración a 200 V en tampón de ejecución TRIS–Glicina–SDS, las

20 proteínas contenidas en el gel se revelaron en un generador de imágenes disponible sin manchas (Biorad, Gel Doc EZ). Como se describe en la Figura 2E, SDS–PAGE muestra proteínas recombinantes que se han producido y purificado:

Línea 1, 12: Marcador de peso molecular (Biorad, Precision plus protein)

Línea 2: His6_EGF[MFG-E8]_C1[MFG-E8] 23,87kDa

5	Línea 3:	EGF[MFG-E8]_C1[MFG-E8]_His6	SEQ ID 115	23,87kDa
	Línea 4:	EGF[MFG-E8]_HSA_C1[MFG-E8]	SEQ ID 117	90,38kDa
	Línea 5:	EGF[MFG-E8]_HSA_C1[MFG-E8]	SEQ ID 74	89,27kDa
	Línea 6:	EGF[MFG-E8]_HSA_C1[MFG-E8]	SEQ ID 73	88,72kDa
	Línea 7:	EGF[EDIL3]_HSA_C1[EDIL3]	SEQ ID 71	98,22kDa
10	Línea 8:	EGF[EDIL3]_HSA_C2[EDIL3]	SEQ ID 135	98,20kDa
	Línea 9:	EGF[MFG-E8]_HSA_C2[MFG-E8]	SEQ ID 137	88,45kDa
	Línea 10:	EGF[EDIL3]_HSA_C1_C2[MFG-E8]	SEQ ID 80	115,67kDa
	Línea 11:	EGF[MFG-E8]_HSA_C1_C2[EDIL3]	SEQ ID 82	107,32kDa

15 **Ejemplo 3: Caracterización de proteínas diseñadas MFG-E8-HSA**

3.1 *Unión de fosfatidilserina (bioquímica)*

Se disolvió L- α -fosfatidilserina (cerebro, porcino, Avanti 840032, Alabama, EE. UU.) En cloroformo, se diluyó en metanol y se recubrieron placas de microtitulación de 384 pocillos (Corning™ 3653, Kennebunk ME, EE. UU.) a 1 μ g/mL. Después de la incubación durante la noche a 4°C, el solvente se evaporó utilizando un sistema SpeedVac™ (Thermo Scientific™). Las placas se trataron con solución salina amortiguada con fosfato (PBS) que contenía albúmina de suero bovino (BSA) libre de ácidos grasos al 3% a TA durante 1,5 h.

La unión de proteínas de fusión a L- α -fosfatidilserina se evaluó compitiendo contra la unión de lactadherina/MFG-E8 murina biotinilada (producida internamente, mMFG-E8: biotina). Las proteínas se diluyeron en PBS que contenía BSA libre de ácidos grasos al 3%, pH 7,4 y se incubaron con placas de microtitulación recubiertas con L- α -fosfatidilserina durante 30 min. mMFG-E8: biotina se agregó en PBS que contenía BSA libre de ácidos grasos al 3%, pH 7,4 a 1 nM y se incubó durante 30 min más. MMFG-E8 no unido: biotina se eliminó la mediante tres pasos de lavado con buffer de lavado de inmunoensayo de fluorescencia de lantánidos potenciada por disociación (DELFIATM) (Perkin Elmer 1244-114 MA, US). Se agregó estreptavidina marcada con europio (Perkin Elmer 1244-360, Wallac Oy, Finlandia) en buffer de ensayo DELFIATM (Perkin Elmer 1244-111 MA, EE.UU.) a TA durante 20 min. A esto le siguieron tres pasos de lavado con buffer de ensayo DELFIATM. El europio se reveló de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Perkin Elmer 1244-105, Boston MA, EE. UU.). La fluorescencia resuelta en el tiempo del europio se cuantificó con un lector de placas de etiquetas múltiples Envision™

5 2103, Perkin Elmer, CT, EE. UU.). El análisis de los datos se realizó utilizando el software MS Excel y GraphPad Prism.

Las placas de polipropileno son placas de microtitulación de baja unión a proteínas que se utilizan normalmente en los laboratorios para diluciones en serie. En comparación con el poliestireno, estas placas tienen la ventaja de reducir la pérdida de proteínas durante las diluciones y normalmente se clasifican como placas de "baja unión a proteínas". Cuando se prepararon diluciones de wtMFG-E8 en placas de polipropileno, en comparación con las diluciones hechas en placas sin unión, wtMFG-E8 perdió potencia en el ensayo de competición de L- α -fosfatidilserina. Estos datos, como se muestra en la Figura 3, sugieren que wtMFG-E8 se pierde parcialmente durante la manipulación de líquidos y los pasos de dilución cuando se utilizan placas de polipropileno que ya se han optimizado para una baja unión a proteínas (Figura 3A). Estos resultados indican que la pegajosidad inherente de wtMFG-E8 plantea un desafío en la manipulación en el laboratorio y muy probablemente durante la fabricación y producción de fármacos, donde se requieren pasos de captura y pulido para producir la sustancia de fármaco con alto rendimiento y muy alta pureza. Por el contrario, la adherencia de la proteína manipulada FP278 (etiqueta EGF-HSA-C1-C2-His; SEQ ID NO: 44) se redujo drásticamente en comparación con wtMFG-E8 y prácticamente ninguna diferencia entre las diluciones realizadas en placas sin unión frente a placas de polipropileno se observó (Fig. 3B). Estos datos sugieren que la inserción de un dominio de solubilización en las proteínas de la presente descripción puede mejorar su manipulación técnica para mejorar el rendimiento por etapas y, por lo tanto, el rendimiento global durante el proceso de fabricación.

La evaluación de la unión de las proteínas de fusión a la L- α -fosfatidilserina se muestra en la Figura 4. La proteína FP278 derivada de MFG-E8 diseñada (etiqueta EGF-HSA-C1-C2-His; SEQ ID NO: 44) unida a PS inmovilizada y en menor grado al fosfolípido cardiolipina de una manera dependiente de la concentración (Fig. 4A). La unión de FP278 a L- α -fosfatidilserina inmovilizada o la unión a cardiolipina (1,3-bis(sn-3'-fosfatidil)-sn-glicerol) se detectó utilizando un anticuerpo contra el dominio EGF-L de wtMFG-E8. La fuerza de unión de varias proteínas de fusión recombinantes a L- α -fosfatidilserina inmovilizada se muestra en la Fig. 4B. El wtMFG-E8 humano y las proteínas de fusión FP278 (etiqueta EGF-HSA-C1-C2-His; SEQ ID NO: 44) y FP260 (EGF-HSA-C1; SEQ ID NO: 34) compitieron eficazmente con la unión de 1 nM de MFG-E8 de ratón biotinilado para inmovilizar L- α -fosfatidilserina de una manera dependiente

5 de la concentración. Los valores de IC₅₀ obtenidos para las proteínas de fusión significan
fuerzas de unión de L- α -fosfatidilserina muy similares de los dominios C1-C2 de la
proteína FP278 diseñada (etiqueta EGF-HSA-C1-C2-His; SEQ ID NO: 44) en
comparación con wtMFG-E8 humano. Sorprendentemente, estos datos también sugieren
10 que el dominio C2 humano no interactúa o solo interactúa débilmente con la L- α -
fosfatidilserina como se muestra en el resultado de FP270 (EGF-HSA-C2; SEQ ID NO:
36), que junto con FP250 (EGF-HSA; SEQ ID NO: 32) no compitió en este formato de
ensayo. Se probó FP100, una proteína EGF-C2-C2 (SEQ ID NO: 26) y no compitió en
este formato de ensayo (no mostrado), dejando el dominio C1 como el resto de unión a
15 PS principal en MFG-E8 humano. Este hallazgo fue sorprendente dado que una gran
cantidad de literatura sugiere que el dominio C2 de MFG-E8 es el dominio principal
responsable de la unión de PS (Andersen *et al.*, (2000) *Biochemistry*, 39(20): 6200-6; Shi
& Gilbert (2003) *Blood*, 101: 2628-2636; Shao *et al.*, (2008) *J Biol Chem.*, 283(11): 7230-
41). En conclusión, estos hallazgos demuestran que el dominio C1 es el principal dominio
de unión a PS integral de las proteínas diseñadas MFG-E8 y es importante para las
20 funciones dependientes de la unión a PS. Como tal, el dominio C1 puede ser útil para la
sustitución en proteínas heterólogas para conferir unión a PS; sin embargo, la unión de
PS más alta se mostró para las proteínas de fusión que contienen un dominio en tándem
C1-C2 o C1-C1 (este último no se muestra).

25 3.2 *Ensayo de adhesión de integrina αv*

Las proteínas de fusión se diluyeron en solución salina amortiguada con fosfato
(PBS) pH 7,4 y se inmovilizaron 50 μ L de una solución 24 nM por adsorción (placa de 96
pocillos, Nunc Maxisorb) durante la noche (1,2 nM/pocillo). Las placas se trataron
posteriormente con PBS que contenía albúmina de suero bovino (BSA) libre de ácidos
30 grasos al 3% a TA durante 1,5 h. Se cultivaron células de linfoma que expresan integrina
 $\alpha v\beta 3$ (ATCC-TIB-48 BW5147.G.1.4, ATCC, EE. UU.) en RPMI 1640 suplementado con
GlutaMax, HEPES 25 mM, FBS al 10%, Pen/Estrep, piruvato de Na 1 mM, β -
Mercaptoetanol 50 μ M. Las células se dividieron el día antes del experimento de
adhesión. Las células se marcaron con 3 μ g/mL de 2',7'-bis-(2-carboxietil)-5-(y-6)-
35 carboxifluoresceína, éster acetoximetílico (BCECF AM) (Thermo Fisher Scientific Inc, EE.
UU.) durante 30 min. Se resuspendieron células BW5147.G.1.4 en buffer de adhesión
(TBS, BSA al 0,5%, MnCl₂ 1 mM, pH 7,4) y se dejaron adherir 50000 células/pocillo a TA

5 durante 40 min. Las células no adherentes se eliminaron mediante lavados repetidos con buffer de adhesión. La fluorescencia de las células adherentes se cuantificó utilizando un lector de placas de múltiples etiquetas Envision™ 2103, Perkin Elmer, EE.UU. El análisis de los datos se realizó utilizando el software MS Excel y GraphPad Prism.

La adhesión celular a la proteína de fusión FP330 inmovilizada (EGF–HSA–C1–
10 C2; SEQ ID NO: 42) fue bloqueada completamente por el inhibidor de la integrina α v cilengitide o EDTA 10 mM que demuestra la adhesión celular dependiente de la integrina a la proteína diseñada inmovilizada (Fig 5A). Una mutación de un solo punto en el motivo de unión a integrina RGD (RGD> RGE) del dominio similar a EGF (FP280; SEQ ID NO: 38) resultó en la abrogación completa de la adhesión celular, lo que demuestra que un
15 motivo de unión a RGD funcional y accesible en la proteína de fusión es esencial para la adhesión dependiente de la integrina α v (Fig. 5B). Una proteína EGF–HSA inmovilizada que carece de los dominios C1–C2, FP250 (SEQ ID NO: 32) no apoyó, o sólo marginalmente, apoyó la adhesión de células BW5147.G.1.4 a pesar de un dominio similar a EGF (Fig. 5C). Este hallazgo sugiere que en las condiciones experimentales
20 probadas, el bucle RGD en el dominio similar a EGF fusionado a HSA puede ser insuficientemente accesible para las integrinas de la superficie celular, posiblemente debido a razones estéricas. Esta perturbación no fue aparente una vez que C1, C2 o C1–C2 se fusionaron al EGF–HSA en la posición C–terminal. Las proteínas recombinantes de esta descripción, por ejemplo, FP330 promueven la adhesión celular dependiente de la
25 integrina α v similar a wtMFG–E8 si se expresa en células CHO o células HEK (Fig. 5D).

Tomados en conjunto, estos datos demuestran que las proteínas de fusión de la presente descripción se unen a integrinas celulares, apoyan la adhesión celular dependiente de integrinas e indican que en proteínas con un inserto de dominio HSA, el dominio similar a EGF C–terminal puede beneficiarse funcionalmente de un dominio de
30 proteína fusionado C–terminalmente para soportar la unión de integrina.

3.3 *Ensayo de eferocitosis de macrófagos y neutrófilos humanos*

Se aislaron células mononucleares de sangre periférica humana (PBMC) de la capa leucocitaria mediante centrifugación en gradiente Ficoll (Ficoll®–Paque PLUS, GE
35 Healthcare, Suecia) seguida de selección negativa de monocitos utilizando un kit de aislamiento Stemcell (Stemcell 19059, Vancouver, Canadá). Los monocitos se diferenciaron en macrófagos "M0" utilizando M–CSF humano recombinante 40 ng/mL

5 (Factor estimulante de colonias de macrófagos, R&D Systems, EE. UU.) en RPMI 1640 que contenía HEPES 25 mM, FBS al 10%, Pen/Estrep, NaPyr 1 mM, 50 μ M β -Merc durante 5 días. Un día antes de la eferocitosis, los macrófagos se marcaron con PKH26 utilizando el kit Red Fluorescent Dye Linker (Sigma MINI26, EE. UU.). Las células se resuspendieron en RPMI 1640 que contenía HEPES 25 mM, FBS al 10%, Pen/Estrep,
10 NaPyr 1 mM, β -Merc 50 μ M y se sembraron en placas negras de 96 pocillos (Corning, EE.UU.) a 40000 células/pocillo y se dejaron adherir durante 20h.

Neutrófilos: Se aislaron neutrófilos humanos de las capas leucocitarias mediante sedimentación de dextrano en combinación con un gradiente de densidad Ficoll™ como sigue: Se eliminó el plasma de la capa leucocitaria mediante centrifugación de la capa
15 leucocitaria diluida. La cosecha celular se diluyó en dextrano al 1% (de Leuconostoc spp. PM 450.000–650.000; Sigma, EE.UU.) y se dejó sedimentar en hielo durante 20–30 min.

Se recogieron los leucocitos del sobrenadante y en una capa Ficoll™ –Paque (GE Healthcare Suecia). Después de la centrifugación, se recogió el sedimento y se lisaron los eritrocitos restantes utilizando buffer de lisis de glóbulos rojos (RBC) (BioConcept, Suiza).
20 Los neutrófilos se lavaron una vez en medio (RPMI 1640 + GlutaMax que contenía HEPES 25 mM, FBS al 10%, Pen/Estrep, NaPyr 0,1 mM, β -Merc 50 μ M) y se mantuvieron durante la noche a 15°C. Se indujo apoptosis/muerte celular mediante el tratamiento de neutrófilos con ligando de Superfas 1 μ g/mL (Enzo Life Sciences, Lausanne, Suiza) a 37°C durante 3 h. Los neutrófilos se tiñeron con Hoechst 33342 (Life
25 Technologies, EE. UU.) durante 25 min y con DRAQ5 (eBioscience, Reino Unido, diluido 1: 2000) a 37°C en la oscuridad durante 5 min.

Ensayo de eferocitosis

Los macrófagos M0 se incubaron con las proteínas de fusión durante 30 min. Se
30 agregaron neutrófilos marcados apoptóticos en una proporción de M0/neutrófilos 1: 4. Se visualizó la eferocitosis de neutrófilos apoptóticos por macrófagos aprovechando el aumento de la intensidad de fluorescencia de DRAQ5 tras la localización de neutrófilos en el compartimento lisosómico de pH bajo de los macrófagos M0.

La eferocitosis se cuantificó utilizando un sistema de análisis de alto contenido de
35 campo amplio ImageXpress Micro XLS (Molecular DEVICES. CA, EE. UU.). Los macrófagos se identificaron mediante fluorescencia PKH26. El índice de eferocitosis (EI, mostrado como %) se calculó como la proporción de macrófagos que contienen al menos

5 un evento de neutrófilos apoptóticos ingeridos (DRAQ5high) con respecto al número total de macrófagos. El análisis de los datos se realizó utilizando el software MS Excel y GraphPad Prism.

El efecto de la proteína de fusión FP278 (etiqueta EGF–HSA–C1–C2–His; SEQ ID NO: 44) sobre la promoción de la eferocitosis de neutrófilos moribundos por macrófagos humanos se muestra en la Figura 6. Las proteínas de fusión aumentan la internalización de neutrófilos humanos moribundos marcados con pHrodo en macrófagos sobre la ya alta capacidad de eferocitosis de los macrófagos M0, que se muestra como el nivel basal. En la Figura 7 se muestra que la proteína de fusión recombinante FP278 puede rescatar la eferocitosis alterada por endotoxina (lipopolisacárido) de neutrófilos moribundos por macrófagos humanos. La Figura 7A muestra el deterioro de la eferocitosis de macrófagos de neutrófilos humanos moribundos por 100 pg/mL de lipopolisacárido (LPS) en tres donantes humanos. El panel de la izquierda muestra la respuesta del donante individual, el panel de la derecha muestra el deterioro medio de la eferocitosis (%) de los tres donantes. La Figura 7B muestra el rescate de esta eferocitosis alterada por endotoxina (LPS) de neutrófilos moribundos por macrófagos humanos con la proteína de fusión FP278.

El rescate de la eferocitosis alterada por partículas de *S. aureus* de neutrófilos moribundos por macrófagos humanos con la proteína de fusión FP330 se muestra en la Figura 8. La Figura 8A muestra el efecto de una concentración de 100 nM de proteína de fusión en la promoción de la eferocitosis sobre el nivel de base (línea de puntos; parte izquierda de la figura), así como el efecto de la proteína de fusión 100 nM en rescatar el deterioro de la eferocitosis causado por la adición de *S. aureus* (parte derecha de la figura). La Figura 8B muestra el efecto de las concentraciones crecientes de la proteína de fusión FP278 (EC50 8 nM) sobre el rescate de la eferocitosis alterada causada por la adición de *S. aureus*, y sobre la promoción de la eferocitosis una vez que se alcanzaron los niveles básicos de eferocitosis.

3.4 Ensayo de eferocitosis endotelial humana – Jurkat

35 Cultivo celular

Las células endoteliales de la vena umbilical humana (HUVEC) se obtuvieron de Lonza (Basilea, Suiza). Las células se cultivaron en matraces recubiertos con gelatina (de

5 piel bovina, concentración final al 0,2% en PBS, dilución de solución de stock al 2%, Sigma, Alemania). Las células se cultivaron con medio de cultivo 199 (Thermo Fischer Scientific, EE. UU.) suplementado con FBS al 10% (GE Healthcare, Reino Unido), Pen/Estrep al 1% (Thermo Fischer Scientific, EE. UU.), Glutamax al 1% (Thermo Fischer Scientific, EE. UU.) y 1 ng/mL de factor de crecimiento de fibroblastos recombinante
10 básico (Peprotech, Reino Unido). Las células se separaron para recolectarlas o pasarlas utilizando Accutase™ (Thermo Fischer Scientific, EE. UU.).

Las células Jurkat E6–1 se obtuvieron de ATCC (American Type Culture Collection, EE. UU.) y se cultivaron en medio de cultivo RPMI 1640 (Thermo Fischer Scientific, EE. UU.) suplementado con FBS al 10% (GE Healthcare, Reino Unido), 1%
15 Pen/Estrep (Thermo Fischer Scientific, EE. UU.), piruvato de sodio 10 mM (Thermo Fischer Scientific, EE. UU.) y 10 mM de HEPES ácido (4–(2–hidroxietil)–1–piperazinetansulfónico, Thermo Fischer Scientific, EE. UU.).

Se indujo la apoptosis de las células Jurkat E6–1 utilizando TRAIL humano recombinante (R&D Systems, EE.UU.). Las células apoptóticas se marcaron con
20 colorante éster pHrodo™ Green STP (Thermo Fischer Scientific, EE. UU.). El buffer de citometría de flujo se preparó con PBS (Thermo Fischer Scientific, EE. UU.) complementado con FBS al 1% (GE Healthcare, Reino Unido), azida sódica al 0,05% p/v (Merck, Alemania) y EDTA 0,5 mM (ácido etilendiaminotetraacético, Thermo Fischer Scientific, EE. UU.).

25

Ensayo de eferocitosis

El día 1, las HUVEC (confluencia del 70–90%) se recogieron por desprendimiento con Accutase™ durante 5 minutos, se lavaron con PBS y se resuspendieron en medio de cultivo celular. El número de células y la viabilidad se evaluaron utilizando un citómetro de
30 flujo Guava EasyCyte (Merck, Alemania) y el reactivo Guava ViaCount (Merck, Alemania) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La cantidad requerida de células se centrifugó a 300 xg durante 5 min a TA y se resuspendió en medio de cultivo para permitir un número de células de 6.6×10^4 células/mL. Se agregaron 150 µL/pocillo de esta suspensión celular a placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos (Corning™, EE. UU.). Las
35 HUVEC se incubaron en una incubadora a 37°C/5% de CO₂/95% de humedad durante 16–20 horas adicionales.

5 El número de células Jurkat E6–1 y el estado de viabilidad/muerte celular se evaluaron utilizando un citómetro de flujo Guava EasyCyte (Merck, Alemania) y el reactivo Guava ViaCount (Merck, Alemania) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La cantidad requerida de células se centrifugó a 300 xg durante 5 min a temperatura ambiente y se resuspendió a una densidad de 1×10^6 células/mL en medio de cultivo
10 complementado con TRAIL humano recombinante a una concentración final de 50 ng/mL. La muerte celular se indujo a 37°C/5% de CO₂/95% de humedad durante la noche.

En el día 2, el medio se retiró de las HUVEC por aspiración y se agregaron 25 µL de medio de cultivo fresco precalentado (37°C), seguido de la adición de 25 µL de proteína de fusión o controles diluidos en medio de cultivo precalentado (37°C). Para la
15 dilución se utilizaron placas de 96 pocillos tratadas con superficie no ligante (NBS) (Corning™, EE. UU.). Se permitió que las proteínas de fusión interactuaran con las HUVEC durante 30 min a 37°C/5% de CO₂/95% de humedad antes de la adición de células Jurkat moribundas.

Se contó el número de células Jurkat E6–1 apoptóticas/moribundas utilizando un
20 citómetro de flujo Guava EasyCyte (Merck, Alemania) y el reactivo Guava ViaCount (Merck, Alemania). La cantidad requerida de células apoptóticas se centrifugaron a 400 xg a TA durante 5 min y se resuspendieron a una densidad de 5×10^6 células/mL en medio RPMI 1640 (sin FBS) complementado con tinte éster pHrodo™ Green STP a una concentración final de 5 µg/mL (medio de tinción). Después de teñir durante 10 min a
25 37°C, el éster de STP pHrodo™ Green reactivo restante se inactivó con medio de tinción complementado con FBS al 10% durante 5 min adicionales a 37°C. Las células marcadas con pHrodo™ Green se lavaron una vez y el número de células se ajustó a 3×10^6 células/mL en medio de cultivo HUVEC. Se añadieron $1,5 \times 10^6$ /pocillo de células Jurkat marcadas con pHrodo™ Green a HUVEC y se incubaron a 37°C/5% de CO₂/95% de
30 humedad durante 5 h. Se eliminó el medio, se lavaron las HUVEC una vez en PBS y se separaron con 40 µL/pocillo de solución Accutase™. Las células se recolectaron mediante la adición de 80 µL de buffer de citometría de flujo helado, se transfirieron a un bloque de 96 pocillos de polipropileno de 1,5 mL, se lavaron con un exceso de buffer de citometría de flujo helado y se centrifugaron a 400 xg (4°C) durante 5 min. Los sobrenadantes se
35 eliminaron por aspiración y los sedimentos se resuspendieron en 80 µL de buffer de citometría de flujo enfriado con hielo y se transfirieron a una placa de microtitulación con fondo en V de 96 pocillos (BD Biosciences, EE. UU.). A continuación, las muestras se

5 midieron en un citómetro de flujo BD LSRFortessa™ (BD Biosciences, EE. UU.). Se registró la intensidad de la fluorescencia pHrodo™ Green, como indicador de la localización lisosómica de las células Jurkat absorbidas. El análisis de datos de citometría de flujo se realizó utilizando el software FlowJo™. Se utilizaron como lectura los valores de intensidad de fluorescencia medios (MFI) de la señal de pHrodo™ Green de las
10 HUVEC reguladas por singlete. El análisis de datos se realizó utilizando el software MS Excel y GraphPad Prism para el cálculo de EC₅₀.

El efecto de las proteínas de fusión FP278 (etiqueta EGF–HSA–C1–C2–His; SEQ ID NO: 44) y FP270 (EGF–HSA–C2; SEQ ID NO: 36) sobre la promoción de la eferocitosis de células Jurkat moribundas por las células endoteliales HUVEC se
15 muestran en la Figura 9. La internalización de las células T Jurkat humanas moribundas marcadas con pHrodo por las HUVEC se potencia de forma potente por la proteína de fusión FP278. Los resultados demuestran que las células endoteliales se arman por la proteína de fusión para convertirse en fagocitos eficientes de células moribundas. Sorprendentemente, la eficacia de las proteínas de fusión en este ensayo depende
20 claramente de la presencia de un dominio en tándem C1–C2 o C1–C1. Una proteína de fusión que consiste en EGF–HSA–C2 (FP270), por ejemplo, está inactiva en este entorno experimental, como se muestra en la Figura 9. La Figura 10 demuestra nuestro hallazgo altamente sorprendente de que la ubicación de un dominio HSA en las proteínas diseñadas, es decir, en la posición N–o C–terminal (HSA–EGF–C1–C2 (FP220; SEQ ID
25 NO: 30) o EGF–C1–C2–HSA (FP110; SEQ ID NO: 28), respectivamente), confiere capacidad de bloqueo de eferocitosis en el ensayo de eferocitosis de macrófagos a las proteínas diseñadas de MFG–E8 HSA. Estos datos demuestran claramente la importancia de posicionar el dominio HSA entre los dominios de unión a integrina y de unión a PS para la promoción eficiente de la eferocitosis por las proteínas de fusión de la presente
30 descripción.

La Figura 11 muestra una comparación de la promoción de la eferocitosis endotelial mediante varios formatos de proteínas de fusión que comprenden combinaciones de un dominio EGF, un dominio C1–C2, HSA o un dominio Fc. La Figura 11A muestra una comparación de proteínas de fusión que comprenden HSA con HSA que
35 se coloca en el C–terminal o N–terminal o entre los dominios de tipo EGF y C1–C2; EGF–C1–C2–HSA (FP110; SEQ ID NO: 28), HSA–EGF–C1–C2 (FP220; SEQ ID NO: 30) y etiqueta EGF–HSA–C1–C2–His (FP278; SEQ ID NO: 44), respectivamente. La Figura

5 11B muestra una comparación de proteínas de fusión que comprenden un dominio Fc con el Fc posicionado en el C-terminal o entre los dominios tipo EGF y C1. Se muestran dos formatos del resto Fc: Fc de tipo salvaje (SEQ ID NO: 7) como se encuentra en FP070 (EGF-Fc-C1-C2; SEQ ID NO: 17) y FP080 (EGF-C1-C2-Fc; SEQ ID NO: 22) y restos Fc con las modificaciones KiH S354C y T366W en un brazo del Fc (FP060; EGF-C1-C2-
10 Fc [S354C, T366W]; SEQ ID NO: 14) Numeración de la EU (Merchant *et al* (1998) *supra*). La Figura 11C muestra una comparación de las proteínas de fusión FP090 (Fc-EGF-C1-C2; SEQ ID NO: 24) que comprenden un resto Fc posicionado en el N-terminal, para tres lotes de FP090 a tres concentraciones diferentes (0,72, 7,2 y 72 nM) en comparación con el control wtMFG-E8. La eferocitosis de células Jurkat moribundas por HUVECs solo fue
15 promovida por proteínas diseñadas con un resto HSA o Fc insertado después del dominio similar a EGF. La Fig. 11D muestra que el inserto de un dominio de solubilización puede conducir a una nueva proteína de fusión bioactiva basada en la proteína puente endógena EDIL3, un parálogo de MFG-E8. Como se muestra en la Fig. 11D, HSA se insertó entre el dominio similar a EGF y el dominio C1-C2 de EDIL3, el parálogo de MFG-E8. Este
20 constructo EDIL3 (FP050 (EGF-HSA-C1-C2 basado en EDIL3; SEQ ID NO: 12) tiene solo uno (que contiene el bucle RGD) de los 3 dominios similares a EGF que se encuentran en wtEDIL3. En este constructo encontramos sorprendentemente una tolerancia similar del inserto de dominio HSA con respecto a la expresión de una nueva proteína diseñada recombinante con una pureza muy alta (Fig.2B). Además, se encontró
25 sorprendentemente que la proteína FP050 diseñada recombinante derivada de EDIL3 promovió la eferocitosis de células Jurkat moribundas por células endoteliales (HUVECS) que demuestran la funcionalidad central de una proteína puente y ejemplifican que los dominios de las proteínas puente son útiles para diseñar proteínas funcionales nuevas diseñadas recombinantes.

30

Ejemplo 4: Eferocitosis de micropartículas plasmáticas protrombóticas

4.1 Ensayo de eferocitosis de micropartículas endoteliales humanas

Cultivo de células

Las células HUVEC se obtuvieron de Lonza (Basilea, Suiza). Las células se
35 cultivaron en matraces recubiertos con gelatina (de piel bovina, concentración final al 0,2% en PBS, dilución de solución de stock al 2%, Sigma Aldrich/Merck, Alemania). Las células se cultivaron con medio de cultivo 199 (Thermo Fischer Scientific, EE. UU.)

5 complementado con FBS al 10% (GE Healthcare, Reino Unido), Pen/Estrep al 1%
(Thermo Fischer Scientific, EE. UU.), Glutamax al 1% (Thermo Fischer Scientific, EE. UU.)
y 1 ng/mL de factor de crecimiento de fibroblastos recombinante básico (Peprotech, Reino
Unido). Las células se separaron para recolectarlas o pasarlas utilizando Accutase™
(Thermo Fischer Scientific, EE. UU.).

10 Se prepararon micropartículas derivadas de plaquetas de acuerdo con el siguiente
procedimiento: se extrajo sangre venosa citrada (Coagulation 9NC Citrate Monovette,
Sarstedt, Alemania) de voluntarios adultos sanos después de otorgar el consentimiento
informado por escrito. Se preparó plasma rico en plaquetas (PRP) mediante
centrifugación (200 x g, 15 minutos, sin freno, temperatura ambiente). Se generaron
15 micropartículas/restos derivados de plaquetas sometiendo el PRP a tres ciclos de
quebrado/congelación utilizando nitrógeno líquido y descongelación a 37°C. Los
fragmentos de plaquetas/micropartículas se sedimentaron mediante centrifugación a 20
000 xg durante 15 min a TA. El sedimento se resuspendió en PBS, se prepararon
alícuotas y se almacenaron a -80°C. Las preparaciones de micropartículas fueron
20 positivas al 85–100% de PS de acuerdo con se determinó mediante citometría de flujo
utilizando lactadherina/MFG-E8 murina marcada con Alexa Fluor™ 488 (Novartis
internamente). Se determinó el número de micropartículas utilizando perlas de recuento
dedicadas (BioCytex/Stago, Francia). El buffer de citometría de flujo se preparó con PBS
(Thermo Fischer Scientific, EE. UU.) complementado con FBS al 1% (GE Healthcare,
25 Reino Unido), azida sódica al 0,05% p/v (Merck, Alemania) y EDTA 0,5 mM (ácido
etilendiaminotetraacético, Thermo Fischer Scientific, EE. UU.).

4.2 Ensayo de eferocitosis

El día 1, las células HUVEC (confluencia 70–90%) se recogieron por
30 desprendimiento con Accutase™ durante 5 min, se lavaron con PBS y se resuspendieron
en medio de cultivo celular. El número de células y la viabilidad se evaluaron utilizando un
citómetro de flujo Guava EasyCyte (Merck, Alemania) y el reactivo Guava ViaCount
(Merck, Alemania) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La cantidad requerida
de células se centrifugó a 300 xg durante 5 min a TA y se resuspendió en medio de cultivo
35 para permitir un número de células de $6,6 \times 10^4$ células/mL. Se agregaron 150 µL/pocillo
de esta suspensión celular a placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos (Corning™, EE.
UU.). Las células HUVEC se incubaron en una incubadora a 37°C/5% de CO₂/95% de

5 humedad durante 16–20 horas adicionales.

En el día 2, se extrajo el medio de las células HUVEC por aspiración y se agregaron 25 µL de medio de cultivo fresco precalentado (37°C), seguido de la adición de 25 µL de la proteína de fusión FP278 (etiqueta EGF–HSA–C1–C2–His; SEQ ID NO: 44) a tres concentraciones diferentes: 0,3 nM, 3 nM o 30 nM o control, diluido en medio de cultivo precalentado (37°C). Para la dilución se utilizaron placas de 96 pocillos tratadas con superficie no ligante (NBS) (Corning™, EE. UU.). Se permitió que las proteínas de prueba interactuaran con las células HUVEC a 37°C/5% de CO₂/95% de humedad durante 30 min antes de la adición de micropartículas derivadas de plaquetas.

La cantidad requerida de micropartículas se centrifugaron a 20'000 xg a 4°C durante 15 min y se resuspendieron a una densidad de 2x10⁸ partículas/mL en medio RPMI 1640 (sin FBS) suplementado con tinte pHrodo™ Green STP Ester a una concentración final de 5 µg/mL (medio de tinción). Después de teñir durante 10 min a 37°C, el éster de pHrodo™ Green STP reactivo restante se inactivó con medio de tinción complementado con FBS al 10% durante 5 min adicionales a 37°C. Las micropartículas marcadas con pHrodo™ Green se lavaron una vez mediante centrifugación a 20 000 xg a 4°C durante 15 min y el número se ajustó a 1x10⁸ partículas/mL en medio de cultivo celular HUVEC. Se agregaron 5x10⁶ partículas/pocillo de micropartículas marcadas con pHrodo™ Green a las células HUVEC y se incubaron a 37°C/5% de CO₂/95% de humedad durante 5 h. Se retiró el medio, se lavaron las células HUVEC una vez en PBS y se separaron con 40 µl/pocillo de solución Accutase™. Las células se recolectaron mediante la adición de 80 µl de buffer de citometría de flujo enfriado con hielo, se transfirieron a un bloque de 96 pocillos de polipropileno de 1,5 mL, se lavaron con un exceso de buffer de citometría de flujo enfriado con hielo y se centrifugaron a 400xg (4°C) durante 5 min. Los sobrenadantes se eliminaron por aspiración y los sedimentos se resuspendieron en 80 µl de buffer de citometría de flujo enfriado con hielo y se transfirieron a una placa de microtitulación con fondo en V de 96 pocillos (BD Biosciences, EE. UU.). Las muestras se midieron en un citómetro de flujo BD LSRFortessa™ (BD Biosciences, EE. UU.). Se registró la intensidad de la fluorescencia de pHrodo™ Green, como indicador de la localización lisosómica de las micropartículas absorbidas. El análisis de datos de citometría de flujo se realizó utilizando el software FlowJo™. Se utilizaron como lectura los valores medios de intensidad de fluorescencia (MFI) de la señal de pHrodo™ Green de células HUVEC reguladas por singlete. El análisis de datos se realizó

5 utilizando el software MS Excel y GraphPad Prism para el cálculo de EC_{50} . La proteína de fusión FP278 promovió la eferocitosis de micropartículas derivadas de plaquetas por células endoteliales de una manera dependiente de la concentración como se muestra en la Figura 12. La promoción de la captación fue dependiente de la concentración y también se observó en otros tipos de células endoteliales (no mostradas).

Ejemplo 5: Propiedades técnicas de las proteínas de fusión MFG–E8–HSA

5.1 *Análisis de unión por resonancia de plasmón superficial (SPR) de la proteína de fusión FP330*

a FcRn

15 Se realizó un ensayo de unión directa para caracterizar la unión de la proteína de fusión FP330 (EGF–HSA–C1–C2; SEQ ID NO: 42) a FcRn. Se midieron las constantes de afinidad de unión cinética (KD) en la proteína capturada utilizando FcRn humano recombinante como analito. Las mediciones se realizaron en un BIAcore® T200 (GE Healthcare, Glattbrugg, Suiza) a temperatura ambiente y a pH 5,8 y 7,4, respectivamente.

20 Para las mediciones de afinidad, las proteínas se diluyeron en NaP 10 mM, NaCl 150 mM, Tween 20 al 0,05%, pH 5,8 y se inmovilizaron en las celdas de flujo de un chip sensor de grado de investigación CM5 (GE Healthcare, ref BR–1000–14) utilizando un procedimiento estándar de acuerdo con la recomendación del fabricante (GE Healthcare). Para que sirva de referencia, se inmovilizó una celda de flujo en blanco. Los datos de

25 unión se adquirieron mediante la inyección posterior de diluciones de analito en serie en la celda de flujo de referencia y medición. Se incluyeron muestras de concentración cero (solo buffer de ejecución) para permitir una doble referencia durante la evaluación de datos. Para la evaluación de los datos, se utilizaron sensogramas referenciados duplicados y se analizaron las constantes de disociación (KD).

30 La proteína de fusión FP330 se une a FcRn a pH 5,8 con una afinidad de 1380 nM, mientras que no se observó unión a pH 7,4 (véase la Tabla 5 anterior). Estos resultados concuerdan bien con la HSA de tipo salvaje (1000–2000 nM, a pH 5,8, datos no mostrados).

5.2 *Calorimetría diferencial de barrido (DSC) de MFG–E8 y variantes*

La estabilidad térmica de la variante FP278 de la proteína MFG–E8 diseñada (etiqueta EGF–HSA–C1–C2–His; SEQ ID NO: 44) se midió utilizando calorimetría de

5 barrido diferencial. Las mediciones se realizaron en un micro calorímetro de barrido
diferencial (Nano DSC, TA instrumentos). El volumen de la celda fue de 0,5 mL y la
velocidad de calentamiento fue de 1°C/min. La proteína se utilizó a una concentración de
1 mg/mL en PBS (pH 7,4). La capacidad calorífica molar de la proteína se estimó por
comparación con muestras duplicadas que contenían buffer idéntico del que se había
10 omitido la proteína. Las capacidades caloríficas molares parciales y las curvas de fusión
se analizaron utilizando un procedimiento estándar. Los termogramas se corrigieron en la
línea de base y se normalizaron las concentraciones. Se observaron dos eventos de
fusión, el primer T_m fue a 50°C, el segundo T_m a 64°C.

15 5.3 *Mediciones de solubilidad y propensión a la agregación de variantes de MFG-E8*

En primer lugar, se midió la propensión a la agregación de la proteína variante
FP278 de MFG-E8 (etiqueta EGF-HSA-C1-C2-His; SEQ ID NO: 44) mediante
dispersión de luz dinámica (DLS, Wyatt). Se aplicó la dispersión de luz dinámica para
medir los coeficientes de difusión traslacional de FP278 en solución cuantificando las
20 fluctuaciones dinámicas en la luz dispersa. Las distribuciones de tamaño de las variantes
de proteína sin fraccionamiento, que proporcionan estimaciones de polidispersidad, así
como los radios hidrodinámicos, se midieron a una concentración de 1 mg/mL. Los radios
hidrodinámicos de la proteína de fusión FP278 se determinaron con un lector de placas
DynaPro™ (Wyatt Technology Europe GmbH, Dernbach, Alemania) combinado con el
25 software DYNAMICS (versión 7.1.0.25, Wyatt). Se midieron 50 µL de la solución de
proteína sin diluir y filtrada (filtro PVDF de 0,22 µm (Unidad de filtro accionada por jeringa
Millex®, Millipore, Billerica, EE. UU.)) en una placa de 384 pocillos (placa de 384 pocillos
redondos, Polystyrol, Thermo Scientific, Langenselbold, Alemania). No se pudieron
identificar agregados de mayor peso molecular de la muestra de proteína. El radio
30 hidrodinámico de la proteína fue de alrededor de 5–6 nm, lo que indica una proteína
monomérica en solución.

En segundo lugar, se realizaron mediciones del radio hidrodinámico dependiente
de la concentración de la proteína de fusión FP278 para estimar la solubilidad de la
proteína. Se aplicaron concentraciones de proteínas de hasta 22 mg/mL. Los radios
35 hidrodinámicos se determinaron como se describió anteriormente. Al aumentar la
concentración de la proteína de fusión FP278, no se pudo observar ningún aumento del
radio (5–7 nm), mientras que la medición dinámica de la dispersión de luz de wtMFG-E8

- 5 (SEQ ID NO: 1) falló debido a la alta agregación a concentraciones de alrededor de 0,2 mg/mL.

Ejemplo 6: Optimización de proteínas de fusión MFG-E8

- Se utilizó espectrometría de masas (MS) para investigar la proteína de fusión
 10 FP330 (EGF-HSA-C1-C2) para generar un panel de proteínas de fusión basadas en MFG-E8 variantes optimizadas para mejorar la expresión y el rendimiento. Se generó un panel de proteínas variantes con ligadores de tamaño y estructura variables, por ejemplo, ligadores que comprenden GS entre los dominios EGF y HSA y/o múltiplos de GS o G4S (SEQ ID NO: 64) entre los dominios HSA y C1. Además, en algunas de las variantes se
 15 incluyeron modificaciones de aminoácidos (representadas como HSA* en la Tabla 7) que comprenden deleciones o sustituciones. El panel de proteínas de fusión variantes se resume en la Tabla 7 a continuación.

Tabla 7: Resumen de proteínas de fusión variantes

Variante	Dominios	Modificación de aminoácidos ¹	Ligador	SEQ ID NO:
wtMFG-E8	EGF-C1-C2	–	-	1
FP330	EGF-GS-HSA-ligador-C1-C2	–	(G ₂ S) ₄ ligador (SEQ ID 62)	42
FP278	Etiqueta EGF-GS-HSA-ligador-C1-C2-His	–	(G ₂ S) ₄ ligador (SEQ ID 62)	44
FP811	EGF-GS-HSA*-ligador-C1-C2	Delección: G632 – L633	G ₄ S (SEQ ID NO: 64)	54
FP010	EGF-GS-HSA*-ligador-C1-C2	Delección: G632 – L633	(G ₄ S) ₂ (SEQ ID NO: 64)	56

			65)	
FP816	EGF-HSA-C1-C2	–	-	58
FP138	EGF-GS-HSA*-ligador-C1-C2	Delección: G632 – L633	(G ₂ S) ₄ ligador (SEQ ID 62)	52
FP284	EGF-GS-HSA*-ligador-C1-C2	Sustitución L633V	(G ₂ S) ₄ ligador (SEQ ID 62)	50
FP776	EGF-HSA*-C1-C2	Delección: A626 – L633	-	48
FP068	EGF-HSA*-C1-C2	Delección: G632 – L633	-	46

- 5 ¹ La posición de la modificación de aminoácidos se enumera de acuerdo con la SEQ ID NO: 42 (FP330)

Ejemplo 7: Proteínas de fusión variantes MFG-E8; expresión y purificación

10 Los métodos para la generación de proteínas de fusión en líneas celulares HEK se describen en el Ejemplo 2. Para la expresión en una línea celular CHO, los ácidos nucleicos que codifican las variantes de MFG-E8 se sintetizaron en Genearth (LifeTechnologies) y se clonaron en un vector de expresión de mamífero utilizando técnicas de clonación basadas en ligación de enzimas de restricción. Los plásmidos resultantes se transfectaron en células CHO-S (Thermo). En resumen, para la expresión

15 transitoria de las proteínas de fusión, el vector de expresión se transfectó en células CHO-S adaptadas a la suspensión utilizando el agente de transfección ExpifectamineCHO (Thermo). Típicamente, se transfectaron 400 mL de células en suspensión a una densidad de 6 millones de células por mL con ADN que contenía 400 µg de vector de expresión que codificaba la proteína diseñada. A continuación, se

20 introdujo el vector de expresión recombinante en las células huésped para su posterior secreción durante siete días en medio de cultivo (medio de expresión ExpiCHO, suplementado con alimentación ExpiCHO y reactivo potenciador (Thermo)).

Como puede verse en los datos de expresión mostrados en la Tabla 8, las proteínas de fusión variantes FP068 (SEQ ID NO: 46) y FP776 (SEQ ID NO: 48) mostraron una mejora aproximada del doble en la expresión sobre la proteína de fusión FP330 (SEQ ID NO: 42).

Tabla 8: Expresión de proteínas de fusión variantes en líneas celulares HEK y CHO*

Proteína	Expresión posterior a la captura de HSA (mg/L)
FP330	11
FP138	10
FP816	9
FP068*	18
FP776*	21
FP284	10
FP811	8
FP010	10

* indica proteína de fusión producida en una línea celular CHO

Ejemplo 8: Caracterización de proteínas de fusión variantes

El efecto de las proteínas de fusión variantes sobre la eferocitosis se determinó realizando ensayos de eferocitosis como se describe en el Ejemplo 3.

En un primer ensayo, se determinó el efecto de las proteínas de fusión variantes en un ensayo de eferocitosis de macrófagos–neutrófilos humanos de acuerdo con el método descrito en la Sección 3.3 anterior. Los macrófagos M0 se incubaron con la proteína de fusión FP330 (EGF–HSA–C1–C2; SEQ ID NO: 42) o variantes FP278 (etiqueta EGF–HSA–C1–C2–His; SEQ ID NO: 44) o FP776 (EGF–HSA–C1–C2; SEQ ID NO: 48) durante 30 min. Como se muestra en la Figura 13, las proteínas de fusión FP330, FP278 y FP776 pueden rescatar endotoxina (lipopolisacárido (LPS))–eferocitosis alterada de neutrófilos moribundos por macrófagos humanos. El aumento de las concentraciones de las proteínas de fusión FP330 ($CE_{50} = 1,6 \text{ nM}$; Figura 13A), FP278 ($CE_{50} = 1,78 \text{ nM}$; Figura 13B) y FP776 ($CE_{50} = 0,5 \text{ nM}$; Figura 13C) llevaron al rescate de la eferocitosis

5 alterada causada por la adición de LPS e incluso promovió la eferocitosis una vez que se alcanzaron los niveles básicos.

Las proteínas de fusión FP330, FP278 y FP776 se caracterizaron además en un ensayo de eferocitosis de células endoteliales humanas (HUVEC)–células Jurkat de acuerdo con el método descrito en la Sección 3.4 anterior. El efecto de las proteínas de fusión FP330, FP278 y FP776 sobre la promoción de la eferocitosis de las células Jurkat moribundas por las células endoteliales HUVEC se muestra en la Figura 14. La internalización de las células T Jurkat humanas moribundas marcadas con pHrodo por las HUVEC se promovió de manera potente mediante concentraciones crecientes de FP330 (EC₅₀ = 3,4 nM; figura 14A), FP278 (EC₅₀ = 2,4 nM; Figura 14B) y FP776 (EC₅₀ = 3 nM; Figura 14C). Estos resultados demuestran que las células endoteliales están armadas por las proteínas de fusión para convertirse en fagocitos eficientes de células moribundas.

Ejemplo 9: Protección de ratones de AKI y la respuesta orgánica aguda desencadenada por AKI

9.1 Modelo de lesión renal aguda

Se adquirieron ratones hembra C57BL/6 (18–22 g) de Charles River (Francia) y se alojaron en una instalación de temperatura controlada en jaulas protegidas con filtro con ciclos de luz/oscuridad de 12 h. Los animales se manipularon respetando estrictamente las leyes federales suizas y los Principios de cuidado de animales de laboratorio NIH. La proteína de fusión terapéutica bajo prueba se administró por vía intraperitoneal (i.p.) o intravenosa (i.v.) dos horas antes de la cirugía. Se aplicó buprenorfina (Indivior Schweiz AG) por vía subcutánea (s.c.) a una dosis de 0,1 mg/kg 60 a 30 minutos antes de la cirugía. La anestesia por inhalación con isoflurano se indujo en una cámara de narcóticos (3,5–5% Vol., Gas portador: oxígeno) durante 5 min antes de la cirugía. Durante la cirugía, el animal se mantuvo bajo anestesia mediante una máscara facial con 1–2% en volumen de isoflurano/oxígeno, el caudal de gas fue de 0,8 a 1,2 L/min. Se afeitó la piel del abdomen y se desinfectó con Betaseptic (Mundipharma, Francia). Los animales se colocaron sobre una manta homeotérmica (Rothacher, Suiza) con un sistema de monitorización homeotérmica (PhysiTemp, EE. UU., PhysiTemp Instruments LLC, EE. UU.) y se cubrieron con una gasa estéril. La temperatura corporal se controló durante toda la cirugía mediante una sonda rectal (PhysiTemp Instruments LLC, EE. UU.) y se controló para permitir una temperatura corporal de 36,5–37,5°C. Todos los animales, incluidos los

5 controles SHAM, se sometieron a nefrectomía unilateral del riñón derecho: después de la incisión/laparotomía en la línea media, el contenido abdominal se retiró hacia la izquierda para exponer el riñón derecho. Se desconectaron y ligaron el uréter derecho y los vasos sanguíneos renales, luego se extrajo el riñón derecho. Para los animales que padecieron AKI, el contenido abdominal se colocó a la derecha sobre una gasa estéril y se
10 diseccionaron la arteria y la vena renales izquierdas para permitir el pinzamiento para la inducción de isquemia. Se utilizó una pinza de microaneurisma (B Braun, Suiza) para pinzar el pedículo renal (arteria y vena juntas usando una pinza) para bloquear el flujo sanguíneo al riñón e inducir isquemia renal. El éxito de la isquemia se confirmó mediante el cambio de color del riñón de rojo a violeta oscuro, que se produjo en unos pocos
15 segundos. Tras la inducción de la isquemia (35–38 minutos), se retiró la pinza del microaneurisma. Se usó solución salina estéril tibia (~ 2 mL, 37°C) para lavar el contenido abdominal para rehidratar los tejidos antes del cierre de la herida. Después del lavado, se añadió i.p. 1 mL más de solución salina estéril como reemplazo de fluidos. Al iniciar la reperusión, la herida se cerró en dos capas (músculo y piel, por separado). A
20 continuación, los animales se mantuvieron bajo una lámpara roja caliente hasta que se recuperaron por completo. Se volvió a administrar buprenorfina 1h y 4h después de la cirugía a una dosis de 0,1 mg/kg y también se incluyó en el agua de bebida (9,091 µg/mL). Después de 24 h, los animales se sacrificaron para su análisis.

25 9.2 Administración de proteínas de fusión terapéuticas

Las proteínas de fusión terapéuticas FP330 (EGF–HSA–C1–C2; SEQ ID NO: 42), FP278 (etiqueta EGF–HSA–C1–C2–His; SEQ ID NO: 44) y FP776 (EGF–HSA–C1–C2; SEQ ID NO: 48) se probaron en el modelo AKI como se describe anteriormente a las dosis establecidas en la Tabla 9 a continuación. Para los estudios para detectar
30 marcadores séricos y expresión de marcadores qPCR, se administró proteína de fusión FP278 2 horas antes de la cirugía. FP330 y FP776 se dosificaron i.v. 30 min antes del inicio de la lesión por reperusión por isquemia. Para el estudio para medir la captación del agente de contraste por imágenes de resonancia magnética, la proteína de fusión FP776 se dosificó profilácticamente 30 min antes de la inducción de AKI a 1,26 mg/kg o se
35 dosificó terapéuticamente 5 h después de la inducción de la lesión por isquemia–reperusión a 2 mg/kg i.v.

5 **Tabla 9:** Dosificación de proteínas de fusión terapéuticas

Proteína de fusión	Dosis (mg/kg)	Vía de administración
FP278	0,16	i.p.
	0,50	
FP330	0,20	i.v.
	0,50	
	1,50	
FP776	0,20	i.v.
	0,75	
	1,26	
	2,00	

9.3 Lecturas/Análisis para la protección de AKI:

Marcadores de suero:

Se tomaron muestras de suero 24 horas después de la inducción de reperusión por isquemia y se analizaron para determinar el contenido de creatinina sérica y nitrógeno ureico en sangre (BUN) utilizando un analizador clínico Hitachi M40 de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Axonlab, Suiza).

Expresión del marcador qPCR en órganos:

Los órganos (riñón, hígado, pulmón y corazón) se recogieron 24 h después de la inducción de AKI y se cortaron en trozos de 1 cm y se almacenaron en buffer ARN Later (Thermo Fisher Scientific Inc, EE. UU.) a 4°C durante la noche. Los trozos de órganos se transfirieron a buffer RLT (RNeasy Mini Kit, Qiagen, DE) que contenía Beta-mercaptoetanol 134 mM (Merck, DE) en tubos de Lysing Matrix D (MP Biomedicals FR) y se homogeneizaron utilizando el FastPrep-24 Instrument (MP Biomedicals). Posteriormente, el tejido fibroso del corazón se digirió con proteinasa K (RNeasy Mini Kit), mientras que los lisados de riñón, hígado y pulmón se centrifugaron directamente durante 3 min a máxima velocidad en una microcentrífuga (Eppendorf, DE). Los sobrenadantes se transfirieron a una columna giratoria QIAshredder (Qiagen, DE) y se centrifugaron durante 2 min. La extracción de ARN de los flujos se realizó de acuerdo con el RNeasy Mini Kit Manual, incluida la digestión de DNasa. La concentración de ARN se midió con un dispositivo Nano Drop 1000 (Thermo Fisher Scientific Inc). Se sometieron a transcripción

5 inversa 2 µg de ARN por muestra de acuerdo con el Manual del kit de transcripción
inversa de ADNc de alta capacidad (Thermo Fisher Scientific Inc) utilizando un
termociclador SimpliAmp (Applied Biosystems, EE. UU.). El ADNc se combinó con agua
libre de nucleasas (Thermo Fisher Scientific Inc), sonda TaqMan (TaqMan Gene
Expression Assay (FAM), Thermo Fisher Scientific Inc) y TaqMan Gene Expression
10 Master Mix (Thermo Fisher Scientific Inc) en una microplaca de 384 pocillos (Placa de
reacción de 384 pocillos óptica MicroAmp, Thermo Fisher Scientific Inc). La qPCR se
realizó en el sistema de PCR en tiempo real ViiA 7 (Applied Biosystems, EE. UU.). Los
ajustes fueron 1: 2 min, 50°C; 2: 10 min, 95°C; 3: 15 s, 95°C; 4: 1 min, 60°C. Los pasos 3
y 4 se repitieron durante 45 ciclos. El análisis de datos se realizó utilizando el software
15 ViiA 7, el software de análisis de datos qPCR se realizó utilizando MS Excel y el software
GraphPad Prism.

Captación del agente de contraste por el hígado medida por imagen por resonancia magnética (MRI)

20 Los métodos para realizar la MRI se adaptaron de una publicación de Egger *et al*
(Egger *et al.*, (2015) J Magn Reson Imaging, 41: 829–840). Los experimentos se
realizaron en un sistema de MRI Bruker Biospec 7–T (Bruker Biospin, Ettlingen,
Alemania). Durante las adquisiciones de señales de MRI, los ratones se colocaron en
posición supina en una cuna de plexiglás. La temperatura corporal se mantuvo a $37 \pm 1^\circ\text{C}$
25 utilizando una almohadilla térmica. Después de un breve período de inducción, la
anestesia se mantuvo con aprox. Isoflurano al 1,4% en una mezcla de O₂/N₂O (1: 2),
administrado a través de un cono nasal. Todas las mediciones se realizaron en animales
que respiran espontáneamente; no se aplicó activación cardíaca ni respiratoria.

Después de colocar un ratón en el escáner, se adquirieron imágenes rápidas de
30 exploración con fines de localización. Los análisis de perfusión se realizaron utilizando un
agente intravascular que contenía nanopartículas de óxido de hierro superparamagnético
(SPIO) (Endorem®, Guerbet, Francia). Endorem® se inyectó por vía intravenosa como un
bolo durante 1,2 s en animales con AKI (24 h después de la inducción de la enfermedad)
o después de la operación simulada (animales después de 24 h de nefrectomía). Se
35 administró un primer bolo durante 1,2 s, junto con la adquisición secuencial de imágenes
ecoplanares a una resolución de 400 ms/imagen. Tras la adquisición de 25 imágenes de
referencia, se inyectó un segundo bolo durante 1,2 s y se adquirieron 575 imágenes más

5 después del bolo, lo que dio como resultado un total de 600 imágenes adquiridas en 4
min. El agente de contraste superparamagnético indujo cambios locales en la
susceptibilidad que dieron como resultado una atenuación de la señal proporcional a la
perfusión del riñón. Para una serie de imágenes, las intensidades de la señal se evaluaron
10 en las regiones de interés (ROI) ubicadas en la corteza/franja externa de la médula
externa. La posición, la forma y el tamaño de las ROI se eligieron cuidadosamente para
asegurar que cubrieran aproximadamente la misma región, a pesar de los movimientos
del riñón causados por la respiración. Las intensidades de señal medias para las
imágenes previas a la inyección proporcionaron intensidades de línea de base (S (0)). Los
15 índices de perfusión se determinaron a partir de los valores medios de las siguientes
proporciones (Rosen et al., (1990) Magn Reson Med., 14: 249–265):

$$-\ln[S(t)/S(0)] \sim TE.V.cT(t)$$

donde TE es el tiempo de eco, V el volumen de sangre y cT la concentración de
agente de contraste.

Las nanopartículas de SPIO utilizadas en el estudio tienen un diámetro medio de
20 aproximadamente 150 nm y son absorbidas por las células de Kupffer en el hígado. Por
tanto, además de la perfusión renal, la MRI también permitió monitorizar la captación de
las nanopartículas en el hígado, detectando el cambio de contraste evaluado en las ROI
colocadas en el hígado.

25 9.4 Resultados

Como se muestra en la Figura 15, las proteínas de fusión FP330 (EGF–HSA–C1–
C2; SEQ ID NO: 42), FP278 (etiqueta EGF–HSA–C1–C2–His; SEQ ID NO: 44) y FP776
(EGF–HSA–C1–C2; SEQ ID NO: 48) protegió la función renal en este modelo de lesión
renal aguda (AKI) cuando se administró por vía i.p. (FP278) o i.v. (FP330 y FP776). Esta
30 protección se refleja en el bloqueo del aumento de creatinina sérica (sCr). La Figura 15A
muestra que la proteína de fusión FP278 en ambas dosis probadas redujo los niveles de
creatinina sérica significativamente ($p < 0,0001$) en comparación con los animales tratados
con vehículo y tan eficazmente como MFG–E8 murino. Como se muestra en la Fig. 15B,
la proteína de fusión FP330 protegió la función renal de una manera dependiente de la
35 dosis e igualmente para la proteína de fusión FP776 (Fig. 15C), donde los niveles de
creatinina sérica también se bloquearon de una manera dependiente de la dosis.

La función renal deteriorada también se refleja en los niveles de nitrógeno ureico

5 en sangre (BUN) en los ratones probados y el efecto de la proteína de fusión FP278 sobre los niveles de BUN se muestra en la Figura 16.

En resumen, como se muestra en las Figuras 15 y 16, las proteínas de fusión FP278, FP330 y FP776 protegen de forma potente contra un aumento de estos marcadores utilizados para diagnosticar clínicamente la insuficiencia renal. La eficacia
10 observada fue confirmada por histología (no mostrada).

Además, como se muestra en la Fig. 17, una dosis única de la proteína de fusión FP278 protege los órganos distantes de la respuesta de fase aguda provocada por AKI. AKI induce una plétora de respuestas de ARNm medibles por qPCR en lisados de órganos distantes altamente perfundidos como el bazo, pulmón, hígado, corazón y
15 cerebro. Los ARNm típicos indujeron daño seleccionado (NGAL, KIM-1), inducción de quimiocinas (no mostradas) o inducción de proteínas de respuesta de fase aguda como amiloide A sérico (SAA). Las figuras 17A y 17B ejemplifican dicha respuesta inducida por AKI (amiloide A sérico (SAA)) en el corazón y pulmón murinos que se bloqueó de forma potente y volvió a los niveles de SHAM después de una única inyección
20 de la proteína de fusión.

La absorción del agente de contraste SPIO Endorem® por el hígado a lo largo del tiempo se muestra en la Figura 18. Los animales con AKI mostraron una absorción significativamente reducida del agente de contraste por el hígado (objetivo = células de Kupffer) en comparación con los animales simulados. El tratamiento con FP776
25 (dosificado profilácticamente a 1,26 mg/kg, -30 min antes de la inducción de AKI, o dosificado terapéuticamente a 2 mg/kg, +5 h después de la inducción de la lesión por reperusión por isquemia) protegió de la pérdida de la acumulación de agente de contraste en el hígado de ratones AKI. Estos resultados sugieren que en este modelo de ratón, AKI desencadena un deterioro significativo de la depuración de partículas mediado
30 por células de Kupffer endógenas y que AKI causa alteraciones microvasculares que impactan en la acumulación de agente de contraste de partículas de hierro en el hígado. El tratamiento con la proteína de fusión FP776 protegió de la pérdida de depuración y de las alteraciones microvasculares, e incluso aumentó la absorción del agente de contraste en ambas dosis probadas, en comparación con los animales simulados.

35 Las proteínas de fusión terapéuticas, por ejemplo de acuerdo con la Modalidad 19 (por ejemplo, SEQ ID NO: 80) o Modalidad 20 (por ejemplo, SEQ ID NO: 82), promueve la

5 adhesión de células de integrina av y promueve la eferocitosis similar a FPJ776 cuando se prueba en los experimentos anteriores. Por lo tanto, son adecuados para los usos terapéuticos descritos en este documento.

En conjunto, estos datos demuestran que las proteínas de fusión de la presente descripción, por ejemplo con un inserto de dominio HSA, son funcionales y eficaces y, por
10 lo tanto, se pueden utilizar como agentes terapéuticos.

Se entiende que los ejemplos y las modalidades que se describen en el presente documento son solo para fines ilustrativos y que se sugerirán varias modificaciones o cambios a la luz de los mismos a los expertos en la técnica y se incluirán dentro del espíritu y el alcance de esta solicitud y el alcance de las reivindicaciones adjuntas. Todas
15 las publicaciones, patentes y solicitudes de patentes citadas en este documento se incorporan como referencia para todos los fines.