155.786

PROTEÍNAS DE FUSIÓN FOLISTATINA-FC

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La invención se refiere al campo de las proteínas de fusión y, en particular, a las proteínas de fusión que comprenden un resto de folistatina. La invención también se refiere a métodos de fabricación de dichas proteínas de fusión, junto con formulaciones farmacéuticas que comprenden dichas proteínas de fusión.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La folistatina es una glicoproteína autocrina cuya función principal es la unión y neutralización de los miembros de la superfamilia TGF-beta y, en particular, de la activina A, la activina B, el GDF8 (miostatina) y el GDF11. Se sabe que existe en varias formas diferentes, incluyendo un polipéptido de 315 aminoácidos (designado FST315); y un polipéptido de 288 aminoácidos (designado FST288), como se muestra en la Figura 1. Tanto el FST315 como el FST288 tienen una gran afinidad por las activinas (Activina A y Activina B), así como por la miostatina (GDF8). En particular, la folistatina puede unirse a la miostatina e inhibirla, que es un regulador negativo de la masa muscular esquelética.

Se ha demostrado que la folistatina es una proteína terapéutica potencial en determinadas afecciones, incluido el tratamiento de trastornos musculares como la distrofia muscular (documentos WO2015/187977 y WO2017/152090). Sin embargo, el uso de la folistatina en terapia se ha topado con una serie de obstáculos, basados principalmente en la dificultad de expresar la folistatina in vitro y en la baja estabilidad/corta vida media de la folistatina in vivo. Ha habido intentos de superar estos obstáculos, y tanto el

documento WO2015/187977 como el WO2017/152090 discuten el uso de proteínas de fusión que comprenden un polipéptido de folistatina fusionado a la porción Fc de una inmunoglobulina.

Siguen siendo necesarios péptidos de folistatina y proteínas de fusión que puedan expresarse más fácilmente in vitro y que tengan una vida media mejorada u otros efectos beneficiosos in vivo.

SÍNTESIS DE LA INVENCIÓN

En un primer aspecto, la invención proporciona una proteína de fusión que comprende: un resto de folistatina, un resto de anticuerpo y, opcionalmente, un enlazador entre el resto de folistatina y el resto de anticuerpo.

En algunas formas de realización, el resto de anticuerpo se une a la albúmina (como la albúmina sérica (SA)) y el resto de folistatina comprende o es una proteína natural, un fragmento funcional de la misma y/o una variante funcional de la misma. En algunos ejemplos, el resto de folistatina se selecciona de: a. SEQ ID NO: 1, b. SEQ ID NO: 2, c. SEQ ID NO: 3, d. SEQ ID NO: 4, e. cualquier proteína que comprenda residuos de aminoácidos que comprendan entre 289 y 314 residuos de cualquiera de las SEQ ID NO: 1 a 4; o f. una secuencia que tenga al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO: 1 a 4.

En algunos ejemplos específicos la proteína de fusión comprende o consiste en:

(a) i. Un polipéptido FST315 definido por la SEQ ID NO: 1, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con el mismo;

ii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el terminal C del polipéptido FST315; y

iii. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(b) i. un polipéptido FST288 definido por la SEQ ID NO: 2, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con el mismo;

ii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el terminal C del polipéptido FST288; y

iii. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(c) i. un polipéptido FST315HBM definido por la SEQ ID NO: 3, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con el mismo;

ii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el terminal C del polipéptido FST315HBM; y

iii. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %,

al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(d) i. un polipéptido FST288HBM definido por la SEQ ID NO: 4, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con el mismo;

ii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el terminal C del polipéptido FST288HBM; y

iii. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(e) i. un polipéptido FST315 definido por la SEQ ID NO: 1, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con el mismo;

ii. un enlazador definido por la SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 o SEQ ID NO: 21 conjugado con el C-terminal del polipéptido FST315;

iii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el extremo libre del enlazador; y

iv. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(f) i. un polipéptido FST288 definido por la SEQ ID NO: 2, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96

%, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con el mismo;

ii. un enlazador definido por la SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 o SEQ ID NO: 21 conjugado al C-terminal del polipéptido FST288;

iii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el extremo libre del enlazador; y

iv. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(g) i. una variante del polipéptido FST315 definida por la SEQ ID NO: 3 (FST315HBM) o SEQ ID NO: 22, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

ii. un enlazador definido por la SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 o SEQ ID NO: 21 conjugado con el C-terminal de la variante polipeptídica FST315;

iii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el extremo libre del enlazador; y

iv. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(h) i. una variante del polipéptido FST288 definida por la SEQ ID NO: 4 (FST288HBM) o SEQ ID NO: 25, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un

97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

ii. un enlazador definido por la SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 o SEQ ID NO: 21 conjugado con el C-terminal de la variante polipeptídica FST288;

iii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma conjugada con el extremo libre del enlazador; y

iv. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(i) SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 24, 25, 26, 27, 32, 33, 34 o 35 o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma y una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(j) SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 24, 25, 26, 27, 32, 33, 34 o 35 y una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6; o

(k) una variante funcional o fragmento de cualquiera de (a) a (j).

En otro aspecto, la invención se refiere a i) uno o más polinucleótidos aislados que codifican la proteína de fusión de la invención; ii) uno o más vectores de clonación o expresión que comprenden uno o más polinucleótidos de la invención; así como iii) una célula huésped que comprende uno o más polinucleótidos según la invención o uno o más vectores de expresión según la invención.

En otro aspecto más, la invención proporciona un proceso para la producción de una proteína de fusión según la invención, que comprende cultivar la célula huésped según la invención en condiciones adecuadas para producir la proteína de fusión y aislar la proteína de fusión.

En un aspecto adicional, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la proteína de fusión según la invención y uno o más portadores, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

En un aspecto adicional, las proteínas de fusión según la invención o las composiciones farmacéuticas según la invención son para uso en terapia.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1: Esquema que ilustra la organización de los dominios de dos moléculas maduras de folistatina (FST288 y FST315; es decir, sin su secuencia N-terminal de señal de secreción) y cómo un par de ejemplo de moléculas FST288 forman un complejo con un homodímero de activina unido por disulfuro. FST288 y FST 315 tienen cuatro dominios en común que incluyen un dominio N-terminal, FSD1, FSD2 y FSD3. El FST315 también puede unirse a la activina y tiene un dominio C-terminal adicional (residuos 289-315).

Figura 2: (A) Los niveles de expresión relativa de las proteínas de fusión de folistatina se determinaron mediante análisis HPLC de proteína-G de sobrenadantes CHO recolectados. Los valores se han normalizado en relación con el nivel de expresión de FST-Fc. N-Fab-FST = resto de anticuerpo Fab fusionado a la porción N-terminal de FST; FST-Fab-C = resto de anticuerpo Fab fusionado a la porción C-terminal de FST; FST-Fc = resto de anticuerpo Fc fusionado a la porción C-terminal de FST; FST-ScFv = resto de anticuerpo ScFv fusionado a la porción C-terminal de FST. (B) Niveles de expresión relativos de FST288, FST315,

FSTWT y FST-HBM (alternativamente denominado HBSM) con un socio de fusión C-terminal (denominados respectivamente fusiones 288, fusiones 315, fusiones WT y fusiones HBSM en la Figura). Los valores se normalizaron con respecto a la expresión de las fusiones 288. (C) Valores de expresión total del monómero, los valores se normalizaron en relación con el nivel de expresión de FST-Fc, n=25. Misma leyenda que para la Figura 2(A).

Figura 3. Perfil farmacocinético de FST315WT (A) Perfil farmacocinético de FST315WT, FST315-Fab y FST315HBM-Fab, dosificados en ratones (n=3 ratones por grupo) a 10 mg/kg por vía intravenosa y muestras de suero monitorizadas durante 7 días; (B) Perfil farmacocinético de FST288WT, FST288-Fab y FST288HBM-Fab administrados a ratones (n=3 ratones por grupo) a 10 mg/kg por vía IV y muestras de suero monitorizadas durante 7 días. Los parámetros farmacocinéticos derivados de todas las moléculas de folistatina del estudio se resumen en la Tabla 1.

Figura 4: Efectos inhibitorios funcionales de (A) FST315HBM-Fab y FST315WT, (B) FST288HBM-Fab y FST288WT en un ensayo de célula de gen reportero estimulado con cualquiera de los 4 ligandos FST principales - Activina A, Activina B, GDF8 (Miostatina) y GDF11. Todas las proteínas de fusión de folistatina inhibieron la señal de forma dependiente de la dosis con los 4 ligandos y un gráfico representativo muestra los diferentes perfiles de potencia de las 4 moléculas de FST frente a los diferentes ligandos, trazando el porcentaje de inhibición frente a la concentración de FST. Estos experimentos se han realizado múltiples veces - FST315HBM-Fab, n=7, FST315WT, n=4, FST288HBM-Fab, n=4 y FST288WT, n=4 y todos los datos se resumen en la Tabla 3, donde los datos se presentan como IC50 y rangos en nM para los 4 ligandos.

Figura 5: Análisis SDS-PAGE de la elución de la proteína A y de los pools de la tira, carril (1) marcador de peso molecular, carril (2) pool de elución ácida, carril (3) tira ácida post elución ácida, carril (4) pool de elución alcalina, carril (5) tira ácida post elución alcalina donde (M) = monómero Fst-Fab de longitud completa (F) = Fab.

Figura 6: Exclusión analítica por tamaño. (A) Pool de elución ácida (B) Pool de elución alcalina (C) Tira ácida post elución ácida (D) Tira ácida post elución alcalina donde (M) = monómero Fst-Fab de longitud completa y (F) = Fab.

Figura 7: Histograma que muestra los niveles de expresión relativa (g/L) de 4 clones celulares evaluados en procesos por lotes alimentados. Clones evaluados en dos medios diferentes (medios A y B) y dos condiciones de alimentación diferentes (FB1 y FB2). Concentración de proteína total determinada por HPLC CH1.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Los términos técnicos se utilizan según su sentido común, a menos que se indique lo contrario. Si se atribuye un significado específico a determinados términos, se darán definiciones de los mismos en el contexto en que se utilicen.

Cuando se utiliza un artículo indefinido o definido para referirse a un sustantivo singular, por ejemplo, “un”, “una”, “el” o “la”, se incluye el plural de ese sustantivo, a menos que se indique específicamente otra cosa. Tal como se utiliza en el presente documento, el término “que comprende” no excluye otros elementos. A efectos de la presente divulgación, se considera que el término “que consiste en” es una forma de realización preferida del término “que comprende”.

Los términos “folistatina” o “FST”, tal como se utilizan en el presente documento, se refieren a una glicoproteína autocrina (referencia UniProt: P19883) que es un inhibidor conocido de las activinas A y B. La folistatina también se une con menor afinidad a GDF11, GDF8 (miostatina), BMPs 2, 4, 6, 7, 11, y 15. Existen dos formas principales de folistatina humana empalmadas alternativamente: una forma más corta (FST288, 31,6 kDa) que se une a las células y una forma circulante más larga (FST315, 34,8 kDa). El FST315 se define según SEQ ID NO: 1 y el FST288 se define según SEQ ID NO: 2 (SEQ ID NO: 1 y 2 son ambas formas maduras, carentes de péptido señal de secreción N-terminal). El FST315 y el FST288, tienen cuatro dominios estabilizados por una red de enlaces disulfuro (18 en total), dos sitios de glicosilación ligados a N y un sitio de unión a heparina. FST315 tiene un dominio adicional de 27 aminoácidos (rico en ácido) en su extremo C-terminal denominado cola ácida. También se incluyen fragmentos funcionales y/o variantes funcionales de los mismos, como los descritos en Sidis et al., 2005. Si va seguido de un número, por ejemplo FST288, indica que la proteína es la forma 288 de la folistatina (a partir del residuo 1 de la forma madura). Si va seguida de un número y de letras, por ejemplo FST315HBM, indica la forma mutante de unión a heparina (HBM), así como el tipo de variante (en este caso la forma 315 de folistatina, que comienza en el residuo 1 de la forma madura e incluye mutaciones de alanina en los residuos K76, K81 y K82). Las activinas son factores de crecimiento polipeptídicos diméricos y pertenecen a la superfamilia TGF-beta. Las activinas pueden estimular la producción de hormonas en las células ováricas y placentarias, favorecer la supervivencia de las células neuronales e influir positiva o negativamente en el progreso del ciclo celular, dependiendo del tipo de célula.

En varios tejidos, la señalización de la activina es antagonizada por su heterodímero relacionado, la inhibina. Por ejemplo, durante la liberación de la hormona folículo-estimulante (FSH) de la hipófisis, la activina promueve la secreción y síntesis de FSH, mientras que la inhibina impide la secreción y síntesis de FSH. La activina también ha sido implicada como regulador negativo de la masa y la función muscular, y los antagonistas de la activina pueden promover el crecimiento muscular o contrarrestar la pérdida muscular in vivo.

El término "anticuerpo" utilizado en el presente documento incluye, pero sin limitación, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales y anticuerpos recombinantes generados mediante tecnologías recombinantes conocidas en la técnica. El término "anticuerpo", tal como se utiliza en el presente documento, incluye anticuerpos de cualquier especie, en particular de mamíferos, como anticuerpos humanos de cualquier isotipo, incluidos IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3, IgG4, IgE, IgD y anticuerpos que se producen como dímeros de esta estructura básica, incluidos IgGA1, IgGA2 o pentámeros como IgM y sus variantes modificadas; anticuerpos de primates no humanos, por ejemplo, de chimpancé, IgGA2 o pentámeros como IgM y sus variantes modificadas. Por ejemplo, de chimpancé, babuino, mono rhesus o mono cynomolgus; anticuerpos de roedores, por ejemplo, de ratón o rata; anticuerpos de conejo, cabra o caballo; anticuerpos de camélidos (por ejemplo, de camellos o llamas, como los Nanobodies™) y sus derivados; anticuerpos de especies de aves, como los anticuerpos de pollo; o anticuerpos de especies de peces, como los anticuerpos de tiburón. El término "anticuerpo" se refiere tanto a anticuerpos glicosilados como aglicosilados. Además, el término "resto de anticuerpo", tal como se utiliza en el presente documento, puede referirse a

anticuerpos de longitud completa, pero en general se refiere a fragmentos de anticuerpos, y más concretamente a fragmentos de unión a antígeno de los mismos. Un fragmento de anticuerpo comprende al menos un dominio de inmunoglobulina de cadena pesada o ligera conocido en la técnica y se une a uno o más antígeno(s). Ejemplos de fragmentos de anticuerpo según la invención incluyen un fragmento Fab, Fab modificado, Fab', Fab' modificado, $F(ab')_2$, Fv, Fab-Fv, Fab-dsFv, Fab-Fv-Fv, scFv y Bis-scFv. Dicho fragmento también puede ser un diacuerpo, tricuerpo, triacuerpo, tetracuerpo, minicuerpo, anticuerpo de dominio único (dAb) como sdAb, VL, VH, VHH o anticuerpo de camélido (por ejemplo, de camello o llama como un Nanobody™) y fragmento VNAR. Un fragmento de unión a antígeno según la invención también puede comprender un Fab unido a uno o dos scFv o dsscFv, cada scFv o dsscFv uniendo la misma diana o una diana diferente (por ejemplo, un scFv o dsscFv uniendo una diana terapéutica y un scFv o dsscFv que aumenta la vida media uniendo, por ejemplo, albúmina).

El término "Fab", tal como se emplea en el presente documento, se refiere a un fragmento de anticuerpo que comprende un fragmento de cadena ligera que comprende un dominio VL (ligero variable) y un dominio constante de una cadena ligera (CL), y un dominio VH (pesado variable) y un primer dominio constante (CH1) de una cadena pesada.

El término "Fab'" empleado en el presente documento es similar a un Fab, en el que la porción Fab se sustituye por un Fab'. El formato puede proporcionarse como una versión PEGilada del mismo. Los dímeros de un Fab' según la presente divulgación crean un $F(ab')_2$ donde, por ejemplo, la dimerización puede ser a través de la bisagra.

El término "Fv" se refiere a dos dominios variables de anticuerpos de longitud completa, por ejemplo dominios

variables cooperativos, como un par cognado o dominios variables madurados por afinidad, es decir, un par VH y VL.

El término "fragmento variable de cadena única" o "scFv", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un fragmento variable de cadena única que está estabilizado por un enlazador peptídico entre los dominios variables VH y VL.

El término "anticuerpo de dominio único", tal como se emplea en el presente documento, se refiere a un fragmento de anticuerpo que consiste en un único dominio variable monomérico. Ejemplos de anticuerpos de dominio único incluyen VH o VL o VHH o V-NAR.

Como se utiliza en el presente documento, el término "afinidad" se refiere a la fuerza de todas las interacciones no covalentes entre una proteína o un fragmento de la misma y su receptor (si la proteína de interés es un ligando) o su ligando (si la proteína de interés es un receptor). A menos que se indique lo contrario, tal como se utiliza en el presente documento, el término "afinidad de unión" se refiere a la afinidad de unión intrínseca que refleja una interacción 1:1 entre los miembros de un par de unión (por ejemplo, un receptor y su ligando). La afinidad de una molécula por su pareja de unión puede representarse generalmente mediante la constante de disociación (KD). La afinidad puede medirse por métodos comunes conocidos en la técnica, incluidos los descritos en el presente documento.

El término "específico", tal como se utiliza en el presente documento en el contexto de anticuerpos y fragmentos de unión a antígenos, se refiere a un anticuerpo que solo reconoce el antígeno para el que es específico o a un anticuerpo que tiene una afinidad de unión significativamente mayor con el antígeno para el que es específico en comparación con la unión a antígenos para los

que no es específico, por ejemplo, al menos 5, 6, 7, 8, 9, 10 veces mayor afinidad de unión.

Los términos “albúmina”, “seroalbúmina” o “SA” se refieren a una proteína globular abundante tanto en los compartimentos vasculares como extravasculares. La forma humana de seroalbúmina (HSA) se conoce con la referencia P02768, mientras que el equivalente en suero de ratón se conoce como P07724.

El término “quimérico” se refiere a anticuerpos en los que una primera porción de al menos una secuencia de anticuerpo de cadena pesada y/o ligera es de una primera especie y una segunda porción de la secuencia de anticuerpo de cadena pesada y/o ligera es de una segunda especie. Los anticuerpos quiméricos de interés en el presente documento incluyen anticuerpos “primatizados” que comprenden secuencias de unión a antígeno de dominio variable derivadas de un primate no humano (por ejemplo, mono del Viejo Mundo, como el mono babuino, rhesus o cynomolgus) y secuencias de región constante humana.

Los anticuerpos “humanizados” son anticuerpos quiméricos que contienen una secuencia derivada de anticuerpos no humanos. En su mayor parte, los anticuerpos humanizados son anticuerpos humanos (anticuerpo receptor) en los que los residuos de una región hipervariable del receptor se sustituyen por residuos de una región hipervariable [o región determinante de la complementariedad (CDR)] de una especie no humana (anticuerpo donante) como el ratón, la rata, el conejo, el pollo o un primate no humano, con la especificidad, afinidad y actividad deseadas. En la mayoría de los casos, los residuos del anticuerpo humano (receptor) fuera de la CDR, es decir, en la región marco (FR), se sustituyen además por los residuos no humanos correspondientes. Además, los anticuerpos humanizados pueden incluir residuos

que no se encuentran en el anticuerpo receptor ni en el anticuerpo donante. Estas modificaciones se realizan para refinar aún más las propiedades del anticuerpo. La humanización reduce la inmunogenicidad de los anticuerpos no humanos en humanos, facilitando así la aplicación de anticuerpos al tratamiento de enfermedades humanas. Los anticuerpos humanizados y varias tecnologías diferentes para generarlos son bien conocidos en la técnica. A menos que se indique lo contrario, los residuos HVR (residuos CDR) y otros residuos en el dominio variable (por ejemplo, residuos FR) se numeran aquí según Kabat.

El término "anticuerpo" también se refiere a los anticuerpos humanos, que pueden generarse como alternativa a la humanización. Por ejemplo, es posible producir animales transgénicos (por ejemplo, ratones) que sean capaces, tras la inmunización, de producir un repertorio completo de anticuerpos humanos en ausencia de producción de anticuerpos murinos endógenos. Otros métodos para obtener in vitro anticuerpos o fragmentos de anticuerpos humanos se basan en tecnologías de visualización, como la tecnología de visualización de fagos o la tecnología de visualización de ribosomas, en las que se utilizan bibliotecas de ADN recombinante generadas, al menos en parte, artificialmente o a partir de repertorios de genes de dominio variable (V) de inmunoglobulina de donantes. Las tecnologías de visualización de fagos y ribosomas para generar anticuerpos humanos son bien conocidas en la técnica. Los anticuerpos humanos también pueden generarse a partir de células B humanas aisladas que se inmunizan ex vivo con un antígeno de interés y posteriormente se fusionan para generar hibridomas que pueden examinarse en busca del anticuerpo humano óptimo.

El término "variante funcional", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a una secuencia de

aminoácidos que ha sido modificada con respecto a una secuencia de referencia, pero que conserva al menos una función biológica de dicha secuencia de referencia. Por ejemplo, una variante funcional de FST conserva al menos una actividad biológica de la proteína FST de referencia, como la unión e inhibición de las activinas A y B.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "identidad de secuencia" o "identidad" se refiere al número de coincidencias (residuos de ácido nucleico o aminoácidos idénticos) en posiciones de un alineamiento de dos secuencias polinucleotídicas o polipeptídicas. La identidad de secuencia se determina comparando las secuencias cuando se alinean de forma que se maximice el solapamiento y la identidad al tiempo que se minimizan los vacíos de secuencia. En particular, la identidad de secuencia puede determinarse utilizando cualquiera de los algoritmos matemáticos de alineación global o local, dependiendo de la longitud de las dos secuencias. La alineación para determinar el porcentaje de identidad de secuencias de ácidos nucleicos o aminoácidos puede lograrse de varias maneras que están dentro de la habilidad en la técnica, por ejemplo, utilizando software informático disponible públicamente en sitios web de Internet como http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/ o http://www.ebi.ac.uk/Tools/emboss/. Los expertos en la técnica pueden determinar los parámetros adecuados para medir la alineación, incluidos los algoritmos necesarios para lograr la máxima alineación en toda la longitud de las secuencias comparadas. A efectos del presente documento, los valores de % de identidad de secuencias de ácidos nucleicos o aminoácidos se refieren a los valores generados mediante el programa de alineación de secuencias por pares EMBOSS Needle, que crea una alineación global óptima de dos secuencias mediante el algoritmo Needleman-Wunsch, en el

que todos los parámetros de búsqueda se establecen en los valores predeterminados, es decir, Matriz de puntuación = BLOSUM62, Apertura de brecha = 10, Extensión de brecha = 0,5, Penalización de brecha final = falso, Apertura de brecha final = 10 y Extensión de brecha final = 0,5.

El término "aislado" significa, a lo largo de esta memoria descriptiva, que el anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, polipéptido o polinucleótido, según sea el caso, existe en un medio físico distinto de aquel en el que puede encontrarse en la naturaleza. El término ácido nucleico "aislado" se refiere a una molécula de ácido nucleico que ha sido aislada de su entorno natural o que ha sido creada sintéticamente. Un ácido nucleico aislado puede comprender ADN sintético, por ejemplo, producido por procesamiento químico, ADNc, ADN genómico o cualquier combinación de los mismos.

Los términos "ácido nucleico" y "polinucleótido" o "secuencia de nucleótidos" pueden utilizarse indistintamente para referirse a cualquier molécula compuesta o que comprenda nucleótidos monoméricos. Un ácido nucleico puede ser un oligonucleótido o un polinucleótido. Una secuencia de nucleótidos puede ser un ADN o un ARN.

El término "vector", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a una molécula de ácido nucleico capaz de propagar otro ácido nucleico al que está unido. El término incluye el vector como estructura de ácido nucleico autorreplicante, así como el vector incorporado en el genoma de una célula huésped en la que se ha introducido. Ciertos vectores son capaces de dirigir la expresión de los ácidos nucleicos a los que están operativamente unidos. Tales vectores se denominan aquí "vectores de expresión".

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado

por una agencia reguladora o farmacopea reconocida, como la Farmacopea Europea, para su uso en animales y/o seres humanos. El término "excipiente" se refiere a un diluyente, adyuvante, portador y/o vehículo con el que se administra el agente terapéutico.

El término "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad que, cuando se administra a un sujeto para tratar una enfermedad, es suficiente para producir dicho tratamiento de la enfermedad.

En el presente documento, los términos "tratamiento", "tratar" y similares se refieren a la obtención de un efecto farmacológico y/o fisiológico deseado. El efecto puede ser profiláctico en términos de prevención total o parcial de una enfermedad o síntoma de la misma y/o puede ser terapéutico en términos de curación parcial o completa de una enfermedad y/o efecto adverso atribuible a la enfermedad. Así pues, el tratamiento abarca cualquier tratamiento de una enfermedad en un mamífero, en particular en un ser humano, e incluye: (a) prevenir la aparición de la enfermedad en un sujeto, es decir, un humano, que puede estar predispuesto a la enfermedad pero que aún no ha sido diagnosticado de padecerla; (b) inhibir la enfermedad, es decir, detener su desarrollo; y (c) aliviar la enfermedad, es decir, provocar la regresión de la enfermedad.

La presente invención se describirá ahora con respecto a aspectos particulares no limitantes y formas de realización de la misma y con referencia a ciertas figuras y ejemplos.

La presente invención aborda la necesidad de péptidos y proteínas de fusión de folistatina mejorados proporcionando nuevas proteínas de fusión de folistatina que incorporan un resto de anticuerpo de unión a antígeno (como un resto de unión a antígeno), siendo dichas proteínas de fusión más fácilmente expresadas in vitro y

teniendo una vida media mejorada u otros efectos beneficiosos in vivo.

La presente invención se basa en el sorprendente hallazgo de los inventores de que las proteínas de fusión basadas en folistatina que incorporan un resto de unión a antígeno muestran una expresión proteica superior y un mayor rendimiento del resto monomérico que las proteínas de fusión basadas en folistatina previamente conocidas que comprenden un resto Fc. En particular, las proteínas de fusión de la invención han demostrado tener un nivel de expresión que es al menos 1,5 veces mayor que las proteínas de fusión FST-Fc. No solo las proteínas de fusión de la invención tienen una mayor expresión relativa en comparación con la proteína de fusión FST-Fc, sino que también dan lugar a un rendimiento mucho mayor del resto monomérico, es decir, proteína de fusión utilizable correctamente plegada (al menos 1,5 veces mayor que una fusión FST-Fc).

El principal objeto/aspecto de la presente invención es una proteína de fusión que comprende o consiste en: a. un resto de folistatina, b. un resto de anticuerpo, y opcionalmente c. un enlazador entre el resto de folistatina y el resto de anticuerpo.

En el contexto de la invención en su conjunto, el resto de folistatina comprende o es una proteína de folistatina natural. Es preferentemente una forma madura de la misma, es decir, que carece de la secuencia señal de secreción N, ya que esta secuencia solo es necesaria para la producción/secreción a partir de una célula. Alternativamente, se trata de un fragmento funcional de la misma. Dicho resto de folistatina es, por ejemplo, la proteína FST288 (SEQ ID NO: 2) o la proteína FST315 (SEQ ID NO: 1). Cualquier forma intermedia de las mismas, por ejemplo, cualquier molécula de folistatina que comprenda

entre 289 y 314 residuos de cualquiera de las SEQ ID NO 1 a 4, también pueden utilizarse, siempre que sean funcionales, es decir, que conserven al menos una actividad biológica de la FST. Aunque no es limitativo, preferentemente cualquier forma intermedia de los restos de folistatina comienza en el residuo 1 de SEQ ID NO:1. Como ejemplos no limitantes, el fragmento funcional de FST puede ser FST291 (es decir, que comprende los residuos 1 a 291 de SEQ ID NO: 1) o FST303 (es decir, que comprende los residuos 1 a 303 de SEQ ID NO: 1). En otra alternativa, el resto de folistatina según la invención (es decir, el fragmento natural o funcional de la misma) es una variante funcional, por ejemplo, puede tener una o más mutaciones, como mutaciones en el sitio de unión a heparina (HBS). Como ejemplo no limitante, el uno o más sitios de mutación pueden seleccionarse de K76, K81 y/o K82 numerados en relación con SEQ ID NO: 1 (véanse las secuencias 22 y 25 como ejemplos). La una o más mutaciones pueden comprender Alanina (A) en lugar de Lisina (K) (dando lugar a mutaciones seleccionadas de K76A, K81A y/o K82A). Como otro ejemplo no limitante, puede usarse un mutante de unión a heparina ("HBM", alternativamente denominado en el presente documento "(HBM)" o "HBSM"), por ejemplo FST288HBM (SEQ ID NO: 4), FST291HBM, FST303HBM o FST315HBM (SEQ ID NO: 3), en el que dicho mutante comprende las mutaciones triples K76A, K81A y K82A.

En particular, las proteínas de fusión según la invención comprenden un resto de folistatina: a) que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, b) que comprende o consiste en entre 289 y 314 residuos de cualquiera de SEQ ID NO: 1 a 4, o c) que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de

identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO: 1 a 4.

Sin querer estar limitados por ninguna teoría, los presentes inventores plantean la hipótesis de que una proteína de fusión de la invención exhibe mayor estabilidad y/o eficacia in vivo que la folistatina de tipo salvaje porque el resto de anticuerpo en la proteína de fusión de la invención es capaz de unirse, por ejemplo, a HSA libre en el sujeto, extendiendo así la vida media de la proteína de fusión.

Por lo tanto, en el contexto de la invención en su conjunto, el resto de anticuerpo se une preferentemente a la albúmina, y preferentemente se une a la albúmina sérica (SA), como la SA de ratón, rata, cyno o humana. Más preferentemente, el resto de anticuerpo se une a HSA humana. Dicho resto de anticuerpo puede ser un resto de anticuerpo quimérico, humanizado o humano. Preferentemente, el resto de anticuerpo de la proteína de fusión de la invención es un fragmento de anticuerpo de unión a antígeno (denominado alternativamente en el presente documento resto de unión a antígeno). Preferentemente, dicho resto de unión a antígeno se selecciona de un Fab, un Fab' o un $F(ab')_2$. Alternativamente, el resto de anticuerpo de la proteína de fusión de la invención se selecciona de un Fab, un Fab' o un $F(ab')_2$ y comprende un dominio VH3 humano capaz de unirse a la proteína A.

En una forma de realización, el resto de anticuerpo de la proteína de fusión de la invención comprende una región variable de cadena ligera que comprende una CDR-L1 que comprende la SEQ ID NO: 13; una CDR-L2 que comprende la SEQ ID NO: 14 y una CDR-L3 que comprende la SEQ ID NO: 15; y una región variable de cadena pesada que comprende una CDR-H1 que comprende la SEQ ID NO: 16; una CDR-H2 que comprende

la SEQ ID NO: 17 y/o una CDR-H3 que comprende la SEQ ID NO: 18.

En una forma de realización alternativa, el resto de anticuerpo de la proteína de fusión de la invención comprende una región variable de cadena pesada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tiene al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma; y una región variable de cadena ligera que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tiene al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma.

La SEQ ID NO: 5 y la SEQ ID NO: 6 representan las cadenas variables pesada y ligera de un anticuerpo antialbúmina designado "CA645" (como se describe en el documento WO2013/068571). Como se confirma en los Ejemplos a continuación, los presentes inventores han encontrado sorprendentemente que una proteína de fusión FST-Fab que comprende las cadenas variables pesada y ligera de SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 6, respectivamente, son más fáciles de producir y purificar.

En el contexto de la invención en su conjunto, las proteínas de fusión comprenden opcionalmente un enlazador entre el resto de folistatina y el resto de anticuerpo. Cuando el enlazador está presente como ejemplos no limitantes puede seleccionarse del grupo que consiste en: SGGGGS (SEQ ID NO: 7), SGGGGSSGGGGS (SEQ ID NO: 19), GGGGS (SEQ ID NO: 20) y GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 21).

Se entenderá que, cuando se crea una proteína de fusión, hay dos opciones para fusionar cualquier resto entre sí: Fusión C-terminal o fusión N-terminal. Como se muestra en los Ejemplos a continuación, los presentes inventores han encontrado sorprendentemente que la fusión del resto de anticuerpo en C-terminal del resto de

folistatina dio lugar a una expresión aún mejor de la proteína de fusión resultante, en comparación con cualquier otro tipo de fusiones, tales como el resto de anticuerpo fusionado a la porción N-terminal del resto de folistatina. En particular, las proteínas de fusión C-terminal de la invención (es decir, un resto de anticuerpo fusionado en C-terminal de la folistatina, ya sea directamente o a través de un enlazador) muestran una expresión superior y un mayor rendimiento de proteína monomérica en comparación con las proteínas de fusión de folistatina basadas en Fc conocidas. Sin embargo, aunque las proteínas de fusión C-terminal dieron como resultado el nivel de expresión más alto, los expertos podrían considerar el resto de anticuerpo fusionado al N-terminal de la folistatina, ya que dan como resultado, por ejemplo, un nivel de expresión aproximadamente 1,5 superior en comparación con las proteínas de fusión de folistatina basadas en Fc.

Del mismo modo, se entenderá que al crear una proteína de fusión entre un polipéptido (aquí un resto de FST) y un resto de anticuerpo (aquí preferentemente un Fab, Fab' o $F(ab')_2$), hay dos opciones para fusionar cualquier resto entre sí: o bien el polipéptido (aquí FST) se fusiona a la cadena pesada del resto de anticuerpo o a la cadena ligera del resto de anticuerpo.

Por consiguiente, en una forma de realización preferida de la proteína de fusión de la invención, el resto de anticuerpo está conectado a la porción C-terminal del resto de folistatina. Si un enlazador está presente, el resto de anticuerpo está preferentemente conectado (o conjugado), vía el enlazador, a la porción C-terminal del resto de folistatina (en otras palabras, el resto de anticuerpo está conectado (o conjugado) a la porción C-terminal del resto de folistatina, y hay un enlazador entre los dos restos). En un ejemplo, la proteína de fusión

comprenderá (de N-terminal a C-terminal) el resto de folistatina, un enlazador unido al C-terminal del resto de folistatina y, a continuación, la cadena pesada del resto de anticuerpo unida al extremo libre del enlazador (normalmente el C-terminal del enlazador).

En algunos ejemplos específicos (pero no limitativos), la proteína de fusión según la invención comprende o consiste en:

(a) i. un polipéptido FST315 definido por la SEQ ID NO: 1, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con el mismo;

ii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el terminal C del polipéptido FST315; y

iii. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(b) i. un polipéptido FST288 definido por la SEQ ID NO: 2, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con el mismo;

ii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el terminal C del polipéptido FST288; y

iii. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(c) i. un polipéptido FST315HBM definido por la SEQ ID NO: 3, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con el mismo;
ii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el terminal C del polipéptido FST315HBM; y
iii. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;
(d) i. un polipéptido FST288HBM definido por la SEQ ID NO: 4, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con el mismo;
ii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el terminal C del polipéptido FST288HBM; y
iii. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma;
(e) i. un polipéptido FST315 definido por la SEQ ID NO: 1, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con el mismo;
ii. un enlazador definido por la SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 o SEQ ID NO: 21 conjugado con el C-terminal del polipéptido FST315;

iii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el extremo libre del enlazador; y

iv. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(f) i. un polipéptido FST288 definido por la SEQ ID NO: 2, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con el mismo;

ii. un enlazador definido por la SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 o SEQ ID NO: 21 conjugado con el C-terminal del polipéptido FST288;

iii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el extremo libre del enlazador; y

iv. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(g) i. una variante polipeptídica FST315 definida por la SEQ ID NO: 3 (FST315HBM) o SEQ ID NO: 22, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

ii. un enlazador definido por la SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 o SEQ ID NO: 21 conjugado con el C-terminal de la variante polipeptídica FST315;

iii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el extremo libre del enlazador; y

iv. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(h) i. una variante polipeptídica de FST288 definida por la SEQ ID NO: 4 (FST288HBM) o SEQ ID NO: 25, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

ii. un enlazador definido por la SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 o SEQ ID NO: 21 conjugado con el C-terminal de la variante polipeptídica FST288;

iii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el extremo libre del enlazador; y

iv. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(i) SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 24, 25, 26, 27, 32, 33, 34 o 35 o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma y una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(j) SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 24, 25, 26, 27, 32, 33, 34 o 35 y una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6; o (k) una variante funcional o fragmento de cualquiera de (a) a (i).

Alternativamente, si se prefiere utilizar una fusión N-terminal, la invención proporciona i. un resto de folistatina definida por cualquiera de las SEQ ID NO: 1 a 4, o una secuencia que tenga al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma; ii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el extremo N-terminal del polipéptido FST315; y iii. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma, y opcionalmente un enlazador entre el resto de folistatina y la cadena pesada Fab. En algunos ejemplos específicos, la proteína de fusión puede definirse por SEQ ID NO: 28, 29, 30 o 31, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, junto con una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6 o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma.

Se demostró que las proteínas de fusión según la invención en su conjunto tienen un nivel de expresión que es al menos 1,5 veces mayor, al menos 2 veces mayor, al menos 3 veces mayor, al menos 4 veces mayor o más en comparación con el nivel de expresión de un FST de tipo salvaje o de una proteína de fusión FST-Fc. También se

demostró que dan lugar a un rendimiento global de proteína monomérica que es al menos 1,5 veces, al menos 2 veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces o al menos 6 veces mayor que el rendimiento global de proteína monomérica de una fusión FST-Fc.

Al realizar dicha comparación, se prefiere comparar similares con similares, por ejemplo, una proteína de fusión FST315-Fab debe compararse con una proteína de fusión FST315-Fc; y/o una proteína de fusión FST288-Fab debe compararse con una proteína de fusión FST288-Fc.

Además, como se destaca en los ejemplos, estuvieron presentes en el suero durante un período de tiempo más largo en comparación con una FST de tipo salvaje (6 días o más para las proteínas de fusión según la invención en comparación con 1 día para la FST de tipo salvaje).

En otro aspecto, la invención proporciona un polinucleótido aislado que codifica la proteína de fusión según la invención en su totalidad, o una variante funcional o fragmento de la misma. El polinucleótido aislado según la presente invención puede comprender ADN sintético, por ejemplo producido por procesamiento químico, ADNc, ADN genómico o cualquier combinación de los mismos.

En consecuencia, en el presente documento se proporcionan polinucleótidos aislados que codifican las proteínas de fusión según la invención en su conjunto, en el que las proteínas de fusión comprenden un resto de folistatina (FST), un resto de anticuerpo y, opcionalmente, un enlazador entre el resto de folistatina y el resto de anticuerpo. El experto entenderá que dicha(s) secuencia(s) polinucleotídica(s) comprenderá(n) además una secuencia de ácido nucleico que codifica una secuencia señal de secreción N-terminal. Dicha secuencia se elegirá en particular en función de la célula huésped que expresará la proteína de fusión.

Pueden utilizarse técnicas estándar de biología molecular para preparar secuencias de ADN que codifiquen las proteínas de fusión según la presente invención. Las secuencias de ADN deseadas pueden sintetizarse total o parcialmente mediante técnicas de síntesis de oligonucleótidos. Pueden utilizarse, según proceda, técnicas de mutagénesis dirigida al lugar y de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Se entenderá que se necesitarán al menos dos polinucleótidos aislados para codificar las proteínas de fusión según las invenciones. En efecto, al menos un polinucleótido aislado codificará el resto FST, el resto de anticuerpo que se fusiona con el resto FST y el enlazador opcional intermedio, y otro polinucleótido aislado codificará el resto de anticuerpo restante que completa la que se fusiona con el resto FST. Como ejemplo no limitativo, un polinucleótido codificará el resto FST, un enlazador y la cadena pesada de un resto anti-HSA-Fab y un polinucleótido codificará la cadena ligera del resto anti-HSA-Fab.

En algunos ejemplos específicos (pero no limitantes), los polinucleótidos aislados codifican una proteína de fusión según la invención que comprende o consiste en:

(a) i. un polipéptido FST315 definido por la SEQ ID NO: 1, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con el mismo;

ii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el terminal C del polipéptido FST315; y

iii. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %,

al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(b) i. un polipéptido FST288 definido por la SEQ ID NO: 2, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con el mismo;

ii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el terminal C del polipéptido FST288; y

iii. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(c) i. un polipéptido FST315HBM definido por la SEQ ID NO: 3, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con el mismo;

ii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el terminal C del polipéptido FST315HBM; y

iii. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(d) i. Un polipéptido FST288HBM definido por la SEQ ID NO: 4, o una secuencia que tenga al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con el mismo;

ii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %,

al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el terminal C del polipéptido FST288HBM; y

iii. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(e) i. un polipéptido FST315 definido por la SEQ ID NO: 1, o una secuencia que tenga al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con el mismo;

ii. un enlazador definido por la SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 o SEQ ID NO: 21 conjugado con el C-terminal del polipéptido FST315;

iii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el extremo libre del enlazador; y

iv. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(f) i. un polipéptido FST288 definido por la SEQ ID NO: 2, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con el mismo;

ii. un enlazador definido por la SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 o SEQ ID NO: 21 conjugado con el C-terminal del polipéptido FST288;

iii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de

identidad de secuencia con la misma, conjugada con el extremo libre del enlazador; y

iv. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(g) i. una variante polipeptídica FST315 definida por la SEQ ID NO: 3 (FST315HBM) o SEQ ID NO: 22, o una secuencia que tenga al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma;

ii. un enlazador definido por la SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 o SEQ ID NO: 21 conjugado con el C-terminal de la variante polipeptídica FST315;

iii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el extremo libre del enlazador; y

iv. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(h) i. una variante del polipéptido FST288 definida por la SEQ ID NO: 4 (FST288HBM) o SEQ ID NO: 25, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

ii. un enlazador definido por la SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 o SEQ ID NO: 21 conjugado con el C-terminal de la variante polipeptídica FST288;

iii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de

identidad de secuencia con la misma, conjugada con el extremo libre del enlazador; y

iv. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(i) SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 24, 25, 26, 27, 32, 33, 34 o 35 o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma y una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(j) SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 24, 25, 26, 27, 32, 33, 34 o 35 y una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6; o

(k) una variante funcional o fragmento de cualquiera de (a) a (i).

Alternativamente, si se prefiere usar una fusión N-terminal, la invención proporciona secuencias polinucleotídicas que codifican una proteína de fusión que comprende o consiste en i. un resto de folistatina definida por cualquiera de las SEQ ID NO: 1 a 4, o una secuencia que tiene al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma; ii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el extremo N-terminal del polipéptido FST315; y iii. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma, y opcionalmente un enlazador entre

el resto de folistatina y la cadena pesada Fab. En algunos ejemplos específicos, la invención proporciona secuencias polinucleotídicas que codifican una proteína de fusión definida por la SEQ ID NO: 28, 29, 30 o 31, o una secuencia que tiene al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma, junto con una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6 o una secuencia que tiene al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma.

En algunos ejemplos específicos (pero no limitantes), los polinucleótidos aislados comprenden o consisten en: (i) SEQ ID NO: 36, 37, 38, 39, 57 o 58 que codifican el resto de folistatina o una secuencia que tiene al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma; (ii) SEQ ID NO: 48, 49 y 50 que codifican las CDR de la cadena pesada del resto de anticuerpo, o una secuencia que tiene al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma; (iii) SEQ ID NO: 51, 52 y 53 que codifican las CDR de la cadena ligera del resto de anticuerpo y (iv) SEQ ID NO: 42, 54, 55 o 56 que codifican el enlazador en caso de que haya un enlazador presente.

En otros ejemplos específicos (pero no limitantes), los polinucleótidos aislados comprenden o consisten en: (i) SEQ ID NO: 36, 37, 38, 39, 57 o 58 que codifica el resto de folistatina o una secuencia que tiene al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma; (ii) SEQ ID NO: 40 que codifica la cadena pesada del resto de anticuerpo, o una secuencia que tiene al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma; (iii) SEQ ID NO: 41 que codifica la

cadena ligera del resto de anticuerpo, o una secuencia que tiene al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma; y (iv) SEQ ID NO: 42, 54, 55 o 56 que codifica el enlazador en caso de que esté presente un enlazador.

En otros ejemplos específicos (pero no limitativos), los polinucleótidos aislados comprenden o consisten en: (i) SEQ ID NO: 43, 44, 45, 46, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65 o 66 que codifica el resto de cadena pesada Fab que está fusionada con el resto FST y el enlazador opcional intermedio o una secuencia que tiene al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma; y (i) SEQ ID NO: 41 que codifica la cadena ligera Fab.

En un aspecto relacionado, la invención proporciona vector(es) de clonación o expresión que comprenden los polinucleótidos que codifican la proteína de fusión según la invención en su conjunto. Se entenderá que el experto puede elegir entre un vector de doble gen (que comprende dos casetes de expresión, uno que codifica el resto FST, el resto de anticuerpo que se fusiona con el resto FST y el enlazador opcional intermedio y otro que codifica el resto de anticuerpo restante) o dos vectores diferentes (uno que codifica el resto FST, el resto de anticuerpo que se fusiona con el resto FST y el enlazador opcional intermedio y otro que codifica el resto de anticuerpo restante).

Los métodos generales de construcción de vectores, los métodos de transfección y los métodos de cultivo son bien conocidos por los expertos en la técnica. A este respecto, se hace referencia, por ejemplo, a “Current Protocols in Molecular Biology”, 1999, F. M. Ausubel (ed), Wiley Interscience, Nueva York y el Manual Maniatis producido por Cold Spring Harbor Publishing.

En un aspecto relacionado, la invención proporciona una célula huésped que comprende las secuencias polinucleotídicas que codifican las proteínas de fusión de la invención, o vector(es) de clonación o expresión que comprenden uno o más polinucleótidos que codifican las proteínas de fusión de la invención.

Para la expresión de las secuencias polinucleotídicas que codifican la proteína de fusión de la presente invención puede utilizarse cualquier sistema de célula huésped/vector adecuado. Pueden usarse sistemas de expresión de células huésped bacterianas, por ejemplo, E. coli, y otros sistemas microbianos, o también pueden usarse sistemas de expresión de células huésped eucariotas, por ejemplo de mamíferos. Las células huésped de mamífero adecuadas incluyen células CHO, de mieloma o de hibridoma. En una forma de realización, una célula huésped comprende (por ejemplo, ha sido transformada con): (1) un vector que comprende dos casetes de expresión, uno que codifica el resto de FST, el resto de anticuerpo que se fusiona con el resto de FST y el enlazador opcional intermedio y otro que codifica el resto de anticuerpo restante, o (2) un primer vector que comprende un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende o consiste en el resto FST, el resto de anticuerpo que está fusionado al resto FST y el enlazador opcional intermedio, y un segundo vector que comprende un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende o consiste en el resto de anticuerpo restante.

Las células huésped adecuadas para la clonación o expresión de vectores codificadores de proteínas de fusión incluyen células procariotas o eucariotas descritas en el presente documento. Por ejemplo, los anticuerpos pueden producirse en bacterias, en particular cuando la glicosilación y la función de efector Fc no son necesarias.

Para la expresión de fragmentos de anticuerpos y polipéptidos en bacterias, véase Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003, pp. 245–254, que describe la expresión de fragmentos de anticuerpos en E. coli). Además de los procariotas, los microbios eucariotas como los hongos filamentosos o las levaduras pueden ser huéspedes de clonación o expresión adecuados para los vectores de codificación de proteínas de fusión, incluidas las cepas de hongos y levaduras cuyas vías de glicosilación se han "humanizado", dando lugar a la producción de un anticuerpo con un patrón de glicosilación parcial o totalmente humano (véase Gerngross et al., 2004; Li et al., 2006). Alternativamente, en la presente invención pueden utilizarse tipos adecuados de células de mamífero, como células de ovario de hámster chino (células CHO), incluidas células CHO-S, células CHO-K1, células CHO dhfr- como células CHO-DG44 y células CHO-DXB11, que pueden utilizarse con un marcador seleccionable DHFR, o aún células CHO-K1 o células CHOK1-SV, que pueden utilizarse con un marcador seleccionable glutamina sintetasa. Otros tipos celulares de uso en la expresión de anticuerpos incluyen líneas celulares linfocíticas, por ejemplo, células de mieloma NSO y células SP2, células COS. La célula huésped puede transformarse de forma estable o transfectarse con las secuencias polinucleotídicas aisladas o los vectores de expresión según la presente invención.

En un aspecto relacionado, la invención proporciona un proceso para la producción de una proteína de fusión según la invención, que comprende cultivar una célula huésped de la invención en condiciones adecuadas para producir la proteína de fusión. Los procesos según la invención pueden comprender además el paso de recuperar el fluido de cultivo celular (CCF) que comprende la proteína de fusión (paso de

cosecha), en otras palabras, el paso de cosechar la proteína de fusión. Posteriormente a la cosecha, la proteína de fusión puede purificarse, por ejemplo, mediante cromatografía de proteína A y otras etapas de cromatografía/filtración. Los procedimientos comprenden además opcionalmente una etapa de formulación de la proteína de fusión purificada, por ejemplo en una formulación con una concentración de proteína, como una concentración de 10 mg/ml o más, por ejemplo 50 mg/ml o más. Sin limitación alguna, la formulación puede ser líquida, liofilizada o secada por pulverización. Para todas estas etapas, pueden utilizarse procesos estándar.

En otro aspecto, la invención proporciona un proceso para la purificación de una proteína de fusión según la invención, que comprende:

i. cargar un fluido de cultivo celular clarificado que comprenda las proteínas de fusión según la invención en una columna cromatográfica de proteína A, previamente equilibrada con un tampón, de modo que se unan las proteínas de fusión a la columna,

ii. lavar la columna cromatográfica con un tampón de lavado que sea el mismo que el tampón de equilibrado de la etapa i. de modo que se eliminen las impurezas,

iii. eluir las proteínas de fusión unidas a la columna con un tampón de elución en condiciones alcalinas,

iv. seguir eluyendo las proteínas de fusión unidas restantes con un tampón de elución ácido,

v. neutralizar los eluidos de las etapas iii. y iv. de forma que se obtengan muestras neutralizadas,

vi. someter dichas muestras neutralizadas a etapas adicionales de purificación para obtener la proteína de fusión purificada.

En un ejemplo no limitante, el tampón de equilibrio/lavado de los pasos i. y ii. es un tampón de

acetato sódico a una concentración de o de aproximadamente 30 a o de aproximadamente 70 mM, tal como de aproximadamente 30, 35, 40, 45, 50, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65 o 70 mM, y con un pH de o de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 6,5, tal como un pH de o de aproximadamente 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4 o 6,5. En otro ejemplo no limitante, el tampón de elución de la etapa iii. es un tampón basado en glicina, tal como el tampón glicina/NaOH, a una concentración de o de aproximadamente 30 a o de aproximadamente 70 mM, tal como aproximadamente 30, 35, 40, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 60, 65 o 70 mM, y con un pH entre aproximadamente 8,0 a aproximadamente 9,0, tal como un pH de o de aproximadamente 8,0, 8,1, 8,2, 8,3, 8,4, 8,5, 8,6, 8,7, 8,8, 8,9, 9,0. En otro ejemplo no limitante, el tampón de elución ácido de la etapa iv. es un tampón citrato a una concentración de o de aproximadamente 50 a o aproximadamente 200 mM, tal como aproximadamente 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 o 200 mM, y con un pH entre aproximadamente 1,5 a aproximadamente 2,5, tal como un pH de o de aproximadamente 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4 o 2,5. En otro ejemplo no limitativo, la neutralización de la etapa v. se realiza a un pH comprendido entre 7,0 y 9,0, como 7,0, 7,2, 7,4, 7,6, 7,8, 8,0, 8,1, 8,2, 8,3, 8,4, 8,5, 8,6, 8,7, 8,8, 8,9 o 9,0. La neutralización se realiza normalmente con Tris o Tris/HCl. Los inventores descubrieron que no solo las proteínas de fusión de la invención se unían a la proteína A, sino que también podían eluirse en condiciones alcalinas. Por el contrario, el Fab libre permanecía fuertemente unido a la proteína A en condiciones alcalinas. Esta característica proporciona varias ventajas potenciales con respecto al proceso posterior. En primer lugar, al no utilizar condiciones de

elución ácidas es posible evitar la coelución del Fab libre, ya que el Fab permanece fuertemente unido a la proteína A. Además, el FST-Fab no se expone a un pH ácido fuerte durante un período prolongado. Por último, la elución alcalina es compatible con los pasos cromatográficos posteriores, lo que significa una menor manipulación de la muestra y, por lo tanto, un aumento potencial del rendimiento y la recuperación.

Como ejemplo específico (pero no limitativo), en el presente documento se proporciona un proceso para la producción de una proteína de fusión que comprende un resto de folistatina (por ejemplo, FST315, FST315HBM, FST288 o FST288HBM) que está unida en el C-terminal con el N-terminal de la cadena pesada de un Fab (VH-CH1) a través de un enlazador SGGGGS opcional. La cadena pesada FST-Fab se co-expresa con la cadena ligera Fab (LC) y las cadenas pesada y ligera están conectadas por un enlace disulfuro intermolecular.

En otro aspecto más, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende las proteínas de fusión según la invención como un todo y uno o más portadores, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas se preparan típicamente mezclando un ingrediente activo (en este caso las proteínas de fusión según la invención) que tiene el grado de pureza deseado con uno o más portadores opcionales farmacéuticamente aceptables en forma de formulaciones secas o soluciones acuosas.

En la preparación de una composición farmacéutica puede utilizarse cualquier portador, diluyente y/o excipiente farmacéuticamente aceptable (véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Alfonso R. Gennaro (Editor) Mack Publishing Company, abril de 1997). Las composiciones farmacéuticas suelen ser estériles y

estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento. Las composiciones farmacéuticas pueden formularse como soluciones (por ejemplo, solución salina, solución de dextrosa o solución tamponada, u otros fluidos estériles farmacéuticamente aceptables), microemulsiones, liposomas u otra estructura ordenada adecuada para acomodar una alta concentración de producto (por ejemplo, micropartículas o nanopartículas). Los portadores pueden incluir, pero sin limitación, tampones; antioxidantes; conservantes; polímeros hidrófilos; aminoácidos; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos; agentes quelantes; contraiones formadores de sal; y/o tensioactivos no iónicos.

Preferentemente, dicha composición farmacéutica se formula como una solución, más preferentemente como una solución opcionalmente tamponada. También pueden incorporarse compuestos activos suplementarios a las composiciones farmacéuticas de la invención. En una forma de realización, la composición farmacéutica es una composición adecuada para administración intravenosa o subcutánea. Estas composiciones farmacéuticas son solo ejemplares y no limitan las composiciones farmacéuticas adecuadas para otras vías de administración. Las composiciones farmacéuticas aquí descritas pueden envasarse en dosis unitarias únicas o en formas multidosis.

La proteína de fusión o composición farmacéutica de la invención puede administrarse a través de 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 ruta y/o el modo de administración variarán en función de los resultados deseados. Ejemplos de vías de administración para proteínas de fusión o composiciones farmacéuticas de la invención incluyen vías de administración intravenosa, intramuscular, intradérmica,

intraocular, intraperitoneal, subcutánea, espinal u otras vías parenterales de administración, por ejemplo mediante inyección o infusión. Alternativamente, la proteína de fusión o la composición farmacéutica de la invención puede administrarse por una vía no parenteral, como una vía de administración tópica, epidérmica o mucosa. Cuando el producto es para inyección o infusión, puede adoptar la forma de una suspensión, solución o emulsión en un vehículo oleoso o acuoso y puede contener agentes adicionales, como agentes de suspensión, conservantes, estabilizantes y/o dispersantes. Alternativamente, la proteína de fusión o la formulación farmacéutica según la invención puede suministrarse en forma seca, para su reconstitución antes del uso con un líquido estéril apropiado. También pueden prepararse formas sólidas adecuadas para su disolución o suspensión en vehículos líquidos antes de la inyección.

Una vez formulada, la proteína de fusión o la formulación farmacéutica de la invención puede administrarse directamente al sujeto.

En otro aspecto, aquí se proporciona una proteína de fusión o una composición farmacéutica según la invención para su uso en terapia. Alternativamente, en el presente documento, se proporciona un método para tratar a un sujeto que necesita una terapia, el método comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de la proteína de fusión o la composición farmacéutica de la invención. En otra alternativa, la invención proporciona el uso de la proteína de fusión o la composición farmacéutica según la invención en la fabricación de un medicamento para uso en terapia.

La cantidad terapéuticamente eficaz variará en función de la proteína o fragmento activo de la misma, la enfermedad y su gravedad y la edad, peso, etc., del sujeto a tratar.

En el contexto de la invención en su conjunto, un "sujeto" se refiere generalmente a un mamífero. Los mamíferos incluyen, pero no se limitan a, animales domésticos (por ejemplo, vacas, ovejas, gatos, perros y caballos), primates (por ejemplo, humanos y primates no humanos como monos), conejos y roedores (por ejemplo, ratones y ratas). Más preferentemente, el sujeto es un ser humano.

Debe tenerse en cuenta que las formas de realización antes mencionadas ilustran más que limitan la invención, y que los expertos en la técnica podrán diseñar muchas formas de realización alternativas sin apartarse del alcance de la invención y, en particular, de las reivindicaciones.

Descripción de las secuencias de aminoácidos

Nombre	**Secuencia**	**SEQ ID NO**
FST315 – forma madura	GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEED VNDNTLFKWMIFNGGAPNCIPCKETCENVDCGPGKKCRMN KKNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKAR CKEQPELEVQYQGRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYC VTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGR SIGLAYEGKCIKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSL CDELCPDSKSDEPVCASDNATYASECAMKEAACSSGVLLE VKHSGSCNSISEDTEEEEEDEDQDYSFPISSILEW	**1**
FST288 – forma madura (es decir, carece de secreción N-terminal **péptido señal)**	GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEED VNDNTLFKWMIFNGGAPNCIPCKETCENVDCGPGKKCRMN KKNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKAR CKEQPELEVQYQGRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYC VTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGR SIGLAYEGKCIKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSL CDELCPDSKSDEPVCASDNATYASECAMKEAACSSGVLLE	**2**

	VKHSGSCN	
FST315HBM – forma madura	GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEED VNDNTLFKWMIFNGGAPNCIPCKETCENVDCGPGKACRMN AANKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKAR CKEQPELEVQYQGRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYC VTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGR SIGLAYEGKCIKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSL CDELCPDSKSDEPVCASDNATYASECAMKEAACSSGVLLE VKHSGSCNSISEDTEEEEEDEDQDYSFPISSILEW	**3**
FST288HBM – forma madura	GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEED VNDNTLFKWMIFNGGAPNCIPCKETCENVDCGPGKACRMN AANKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKAR CKEQPELEVQYQGRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYC VTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGR SIGLAYEGKCIKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSL CDELCPDSKSDEPVCASDNATYASECAMKEAACSSGVLLE VKHSGSCN	**4**
Fab cadena pesada (FabHC)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQA PGKGLEWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTVYL QMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC	**5**
Fab cadena ligera (FabLC)	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCQSSPSVWSNFLSWYQQK PGKAPKLLIYEASKLTSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCGGGYSSISDTTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC	**6**
Enlazador de ejemplo	SGGGGS	**7**
FST315HBM–FabHC (con	GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEED VNDNTLFKWMIFNGGAPNCIPCKETCENVDCGPGKACRMN	**8**

enlazador subrayado)	AANKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKAR CKEQPELEVQYQGRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYC VTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGR SIGLAYEGKCIKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSL CDELCPDSKSDEPVCASDNATYASECAMKEAACSSGVLLE VKHSGSCNSISEDTEEEEEDEDQDYSFPISSILEWSGGGG SEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQ APGKGLEWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTVY LQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC	
FST315HBM-FabHC (sin enlazador)	GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEED VNDNTLFKWMIFNGGAPNCIPCKETCENVDCGPGKACRMN AANKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKAR CKEQPELEVQYQGRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYC VTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGR SIGLAYEGKCIKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSL CDELCPDSKSDEPVCASDNATYASECAMKEAACSSGVLLE VKHSGSCNSISEDTEEEEEDEDQDYSFPISSILEWEVQLL ESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGL EWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSL RAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSC	**9**
FST288HBM-FabHC (con enlazador subrayado)	GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEED VNDNTLFKWMIFNGGAPNCIPCKETCENVDCGPGKACRMN AANKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKAR CKEQPELEVQYQGRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYC VTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGR SIGLAYEGKCIKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSL CDELCPDSKSDEPVCASDNATYASECAMKEAACSSGVLLE	**10**

	VKHSGSCNSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSG IDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWASGTTFYATWAKGR FTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAP YFDLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSC	
FST288HBM-FabHC (sin enlazador)	GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEED VNDNTLFKWMIFNGGAPNCIPCKETCENVDCGPGKACRMN AANKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKAR CKEQPELEVQYQGRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYC VTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGR SIGLAYEGKCIKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSL CDELCPDSKSDEPVCASDNATYASECAMKEAACSSGVLLE VKHSGSCNEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNY AINWVRQAPGKGLEWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRD NSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSC	**11**
secreción N-terminal secuencia señal/péptido	MVRARHQPGGLCLLLLLLCQFMEDRSAQA	**12**
CDR1 de cadena ligera	QSSPSVWSNFLS	**13**
CDR2 de cadena ligera	EASKLTS	**14**
CDR3 de cadena ligera	GGGYSSISDTT	**15**
CDR1 de cadena pesada	GIDLSNYAIN	**16**

CDR2 de cadena pesada	IIWASGTTFYATWAKG	**17**
CDR3 de cadena pesada	TVPGYSTAPYFDL	**18**
Enlazador de ejemplo alternativo	SGGGGSSGGGGS	**19**
Enlazador de ejemplo alternativo	GGGGS	**20**
Enlazador de ejemplo alternativo	GGGGSGGGGS	**21**
FST315(variant e)	GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEED VNDNTLFKWMIFNGGAPNCIPCKETCENVDCGPGKXCRMN XXNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKAR CKEQPELEVQYQGRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYC VTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGR SIGLAYEGKCIKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSL CDELCPDSKSDEPVCASDNATYASECAMKEAACSSGVLLE VKHSGSCNSISEDTEEEEEDEDQDYSFPISSILEW	**22**
FST288(variant e)	GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEED VNDNTLFKWMIFNGGAPNCIPCKETCENVDCGPGKXCRMN XXNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKAR CKEQPELEVQYQGRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYC VTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGR SIGLAYEGKCIKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSL CDELCPDSKSDEPVCASDNATYASECAMKEAACSSGVLLE VKHSGSCN	**23**
FST315(variant e)-FabHC	GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEED VNDNTLFKWMIFNGGAPNCIPCKETCENVDCGPGKXCRMN XXNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKAR CKEQPELEVQYQGRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYC	**24**

	VTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGR SIGLAYEGKCIKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSL CDELCPDSKSDEPVCASDNATYASECAMKEAACSSGVLLE VKHSGSCNSISEDTEEEEEDEDQDYSFPISSILEWEVQLL ESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGL EWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSL RAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSC	
FST315(variante)-FabHC (con enlazador subrayado)	GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEED VNDNTLFKWMIFNGGAPNCIPCKETCENVDCGPGKXCRMN XXNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKAR CKEQPELEVQYQGRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYC VTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGR SIGLAYEGKCIKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSL CDELCPDSKSDEPVCASDNATYASECAMKEAACSSGVLLE VKHSGSCNSISEDTEEEEEDEDQDYSFPISSILEWSGGGG SEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQ APGKGLEWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTVY LQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC	**25**
FST288(variante)-FabHC	GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEED VNDNTLFKWMIFNGGAPNCIPCKETCENVDCGPGKXCRMN XXNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKAR CKEQPELEVQYQGRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYC VTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGR SIGLAYEGKCIKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSL CDELCPDSKSDEPVCASDNATYASECAMKEAACSSGVLLE VKHSGSCNEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNY AINWVRQAPGKGLEWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRD	**26**

	NSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC	
FST288(variante)-FabHC (con enlazador subrayado)	GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEED VNDNTLFKWMIFNGGAPNCIPCKETCENVDCGPGKXCRMN XXNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKAR CKEQPELEVQYQGRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYC VTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGR SIGLAYEGKCIKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSL CDELCPDSKSDEPVCASDNATYASECAMKEAACSSGVLLE VKHSGSCN<u>SGGGGS</u>EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSG IDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWASGTTFYATWAKGR FTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAP YFDLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC	**27**
FabHC-FST315(variante)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQA PGKGLEWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTVYL QMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGNCWLRQAKNGRCQVL YKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNGGA PNCIPCKETCENVDCGPGKXCRMNXXNKPRCVCAPDCSNI TWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQGRCK KTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQY LCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKCIKAKSC EDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCA SDNATYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCNSISEDTEE EEEDEDQDYSFPISSILEW	**28**
FabHC-FST315(variant	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQA PGKGLEWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTVYL	**29**

e)- (con enlazador subrayado)	QMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCSGGGGSGNCWLRQAKN GRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWM IFNGGAPNCIPCKETCENVDCGPGKXCRMNXXNKPRCVCA PDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQ YQGRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEP ASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKC IKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKS DEPVCASDNATYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCNSI SEDTEEEEEDEDQDYSFPISSILEW	
FabHC-FST288(variant e)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQA PGKGLEWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTVYL QMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGNCWLRQAKNGRCQVL YKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNGGA PNCIPCKETCENVDCGPGKXCRMNXXNKPRCVCAPDCSNI TWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQGRCK KTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQY LCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKCIKAKSC EDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCA SDNATYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCN	**30**
FabHC-FST288(variant e)- (con enlazador subrayado)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQA PGKGLEWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTVYL QMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCSGGGGSGNCWLRQAKN GRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWM IFNGGAPNCIPCKETCENVDCGPGKXCRMNXXNKPRCVCA	**31**

	PDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQ YQGRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEP ASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKC IKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKS DEPVCASDNATYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCN	
FST315-FabHC (con enlazador subrayado)	GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEED VNDNTLFKWMIFNGGAPNCIPCKETCENVDCGPGKKCRMN KKNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKAR CKEQPELEVQYQGRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYC VTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGR SIGLAYEGKCIKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSL CDELCPDSKSDEPVCASDNATYASECAMKEAACSSGVLLE VKHSGSCNSISEDTEEEEDEDQDYSFPISSILEWSGGGG SEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQ APGKGLEWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTVY LQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC	**32**
FST315-FabHC (sin enlazador)	GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEED VNDNTLFKWMIFNGGAPNCIPCKETCENVDCGPGKKCRMN KKNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKAR CKEQPELEVQYQGRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYC VTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGR SIGLAYEGKCIKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSL CDELCPDSKSDEPVCASDNATYASECAMKEAACSSGVLLE VKHSGSCNSISEDTEEEEDEDQDYSFPISSILEWEVQLL ESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGL EWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSL RAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSC	**33**

FST288-FabHC (con enlazador subrayado)	GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEED VNDNTLFKWMIFNGGAPNCIPCKETCENVDCGPGKKCRMN KKNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKAR CKEQPELEVQYQGRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYC VTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGR SIGLAYEGKCIKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSL CDELCPDSKSDEPVCASDNATYASECAMKEAACSSGVLLE VKHSGSCNSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSG IDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWASGTTFYATWAKGR FTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAP YFDLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC	**34**
FST288-FabHC (sin enlazador)	GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEED VNDNTLFKWMIFNGGAPNCIPCKETCENVDCGPGKKCRMN KKNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKAR CKEQPELEVQYQGRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYC VTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGR SIGLAYEGKCIKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSL CDELCPDSKSDEPVCASDNATYASECAMKEAACSSGVLLE VKHSGSCNEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNY AINWVRQAPGKGLEWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRD NSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC	**35**

** Las X de los números SEQ ID 22-31 significan "cualquier aminoácido".*

EJEMPLOS

Materiales y métodos

Producción de proteínas de fusión folistatina-Fab

Estrategia de clonación: Los segmentos de ADN correspondientes a las fusiones entre las secuencias de cadena pesada o ligera (con o sin secuencias enlazadoras intermedias) de la folistatina y el anticuerpo antialbúmina (designado 645 Fab) se generaron mediante PCR o síntesis génica y se clonaron utilizando vectores de expresión propios de mamíferos. Las secuencias de cadena pesada y ligera del 645 Fab se clonaron también por separado utilizando vectores de expresión propios de mamíferos. Todos los vectores de expresión se confirmaron mediante secuenciación directa utilizando cebadores que cubrían todo el marco de lectura abierto.

Cultivo de células CHO: Se preadaptaron suspensiones de células CHOS-XE (Cain et al., 2013) en medio CD CHO (Invitrogen) suplementado con 2 mM de Glutamax. Las células se mantuvieron en fase de crecimiento logarítmico con agitación a 120 RPM en una incubadora de agitación (Kuhner AG) y se cultivaron a 37 °C en una atmósfera que contenía un 8 % de CO_2.

Expresión de proteínas: Las proteínas folistatina-Fab se sobreexpresaron mediante transfección transitoria de la línea celular CHO-XE. Se cotransfectaron pares de plásmidos de expresión (por ejemplo, N-fab cadena ligera-FST-C con la cadena pesada o FST-C fab cadena pesada-C con la cadena ligera). Inmediatamente antes de la transfección con ADN, las células CHO se cambiaron al medio de expresión Expi CHO (Gibco) centrifugando brevemente las células a 1500 x g y resuspendiendo el precipitado. A continuación, las células se transfectaron utilizando ExpiFectamine (Gibco), siguiendo las instrucciones del fabricante. Los cultivos se mantuvieron a 37 °C durante las primeras 24 horas y luego a 32 °C durante el resto del ciclo de expresión, con agitación a 190 RPM en una atmósfera que contenía un 8 % de CO2. Los sobrenadantes se recogieron normalmente entre 9 y

14 días después de la transfección mediante centrifugación a 4000 x g y posterior filtración con membranas de 0,22 µm. Los niveles finales de expresión proteica se determinaron mediante Protein G-HPLC y SDS PAGE.

Purificación de proteínas: El contenido proteico expresado transitoriamente se capturó utilizando una columna Mab Select (GE Healthcare) en condiciones estándar. En resumen, la resina se lavó con 10 volúmenes de columna de tampón fosfato salino (PBS, pH 7,4), y las proteínas unidas se eluyeron con 5 volúmenes de columna de citrato sódico 0,1 M pH 3,1 (salvo que se indique lo contrario en los ejemplos siguientes). El eluido se neutralizó con TRIS-HCl pH 8,5 y se filtró y esterilizó mediante cromatografía de exclusión por membrana de 0,22 µm (columna HiLoad 26/60 Superdex 75, GE Healthcare) en condiciones estándar (en este caso, las columnas se precargaron con PBS pH 7,4 como tampón de funcionamiento). La calidad de las muestras se evaluó mediante absorbancia a 280 nm, UPLC analítica BEH2000 y SDS PAGE (en condiciones reductoras y no reductoras).

Para las purificaciones de proteína G, los sobrenadantes clarificados se cargaron en una columna de proteína G HP (GE Healthcare) equilibrada en PBS pH 7,4 y posteriormente se lavaron con el mismo tampón. El material ligado se eluyó con Glicina-HCl 0,1 M pH 3,0. Los eluidos ácidos se neutralizaron con un disolvente ácido. Los eluidos ácidos se neutralizaron con Tris/HCl 2 M pH 8,5. El material purificado se cuantificó por absorbancia a 280 nm.

Cromatografía de exclusión por tamaño (SEC): Las muestras se inyectaron en una columna BEH200, 200Å, 1,7µm, 4,6mm ID x 300mm (Aquity) y se desarrollaron con un gradiente isocrático de fosfato 0,2M pH7 a 0,35mL/min, con detección por absorbancia a 280nm y detector de fluorescencia multicanal (FLR) (Waters).

SDS-PAGE: Para el análisis mediante electroforesis en gel de dodecilsulfato sódico-poliacrilamida (SDS-PAGE) se prepararon muestras añadiendo 4 x tampón de muestras Novex NuPAGE LDS (Life Technologies) y 100mM N-etilmaleimida (Sigma-Aldrich) a la proteína purificada y se calentaron a 100 °C durante 3min. Las muestras se cargaron en un gel de 10 pocillos Novex 4-20 % Tris-glicina 1,0mm SDS-poliacrilamida (Life Technologies) y se separaron a un voltaje constante de 225V durante 40 min en tampón de funcionamiento Tris-glicina SDS (Life Technologies). Se utilizaron como patrones los estándares de proteínas de amplio espectro Novex Mark12 (Life Technologies). El gel se tiñó con Coomassie Quick Stain (Generon) y se decoloró en agua destilada.

Mediciones farmacocinéticas: Las proteínas FST se dosificaron a ratones C57BL/6 por vía intravenosa a 10 mg/kg (2 mL/kg IV, 5 mL/kg SC). Se tomaron muestras de sangre diariamente durante 7 días. Se generaron muestras de suero y se analizaron mediante un ensayo de unión a ligando que detecta folistatina (incluidos FST288 y FST315). Los parámetros farmacocinéticos se calcularon a partir de los datos individuales utilizando Phoenix v8.3.

Ensayos con células de genes informadores de actividad funcional: Para medir la eficacia de las proteínas de folistatina en el bloqueo de la activación de la vía de señalización SMAD2/3 provocada por estímulos (Activina A/B, GDF8/11), se utilizaron células reporteras HEK-Blue™ TGFβ (Invivogen). Brevemente, las proteínas de folistatina y sus controles correspondientes se prediluyeron en el medio de cultivo en función de la concentración y la actividad prevista, de forma que la curva de inhibición resultante tuviera la parte superior e inferior completas. A esto le siguió una dilución en serie de 10 puntos a 1 en 3 en el medio de cultivo antes de alicuotar cuatro réplicas de cada

dilución a 20µl/pocillo en una placa de ensayo de cultivo de 384 células. Se añadieron 10µl de cada estímulo a los pocillos que representaban la dilución en serie de folistatina, así como en los pocillos sin folistatina que representaban la respuesta más alta a los estímulos. Los pocillos con el mismo volumen de medio se representaron como no tratados. La placa de ensayo se incubó durante una hora a 37 °C antes de añadir células HEK-BlueTM TGFβ (10.000 células/20µL) por pocillo y la placa de ensayo se incubó a 37 °C durante 17 horas más. Se añadieron 45 µl/pocillo de solución QUANTI-Blue™ a una nueva placa de ensayo 384 designada como placa de destino, antes de utilizar manipuladores de líquidos automatizados para transferir 5 µl de sobrenadante celular de la placa de ensayo a la placa de destino. La placa de destino se mantuvo brevemente en el agitador y, a continuación, se incubó durante una hora a 37 °C. Los valores de absorbancia de cada pocillo se midieron a 630 nm en un lector de placas y se calculó el porcentaje de inhibición de la actividad SMAD2/3 mediada por folistatina en función de la dosis junto con el factor Z.

Datos de unión de Biacore

La cinética de unión de las proteínas de fusión a diversas dianas (véase más adelante) se determinó mediante resonancia de plasmón superficial utilizando un Biacore T200 (Cytiva). Para cada tipo de ensayo, los parámetros cinéticos se determinaron mediante un modelo de unión 1:1 utilizando el software Biacore T200 Evaluation (versión 3.0).

Para evaluar la unión a la activina A y la activina B (R&D Systems), se inmovilizó primero un anticuerpo específico de fragmento $F(ab')_2$ antihumano de cabra (Jackson ImmunoResearch) en un chip sensor CM5 mediante química de acoplamiento de aminas hasta un nivel de aproximadamente

5000RU. Utilizando un enfoque cinético multiciclo estándar, cada ciclo de análisis consistió en la captura de FST-Fab en la superficie anti-F(ab')$_2$ seguida de la inyección del analito y, por último, la regeneración de la superficie mediante 60 inyecciones de HCl 50 mM y NaOH 5 mM. Los analitos se inyectaron (300s a 25 °C a un caudal de 30 µl/min) utilizando una dilución en serie triple en tampón de funcionamiento HBS-EP+ (Cytiva) a concentraciones de 30, 10, 3,3, 1,1, 0,367 y 0,122 nM, tras lo cual se monitorizó la disociación durante 900 s. Se restó la respuesta de unión de una superficie en blanco paralela y se incluyeron inyecciones en blanco de tampón para restar el ruido y la deriva del instrumento.

Para evaluar la unión a GDF8 y GDF11 (R&D Systems), cada uno de ellos se inmovilizó mediante química de acoplamiento de aminas en la superficie de un sensorchip CM5 hasta alcanzar un nivel de inmovilización de aproximadamente 250RU. Tanto para GDF8 como para GDF11, el análisis se llevó a cabo utilizando un enfoque cinético de ciclo único con inyecciones secuenciales de 180 s de FST-Fab a concentraciones crecientes (0,8, 4, 20, 100 y 500 nM) en tampón de funcionamiento HBS-EP+ (Cytiva) a 25 °C a un caudal de 30 µl/min, seguido de la monitorización de la disociación durante 1800 s. Se sustrajo la respuesta de unión de una superficie en blanco paralela y se realizó una serie de inyecciones en blanco de tampón para sustraer el ruido y la deriva del instrumento.

Para la evaluación de la unión a la albúmina: En primer lugar, se inmovilizó un anticuerpo específico de fragmento F(ab')$_2$ antihumano de cabra (Jackson ImmunoResearch) en un chip sensor CM5 mediante química de acoplamiento de aminas hasta un nivel de aproximadamente 5000RU. Utilizando un enfoque cinético multiciclo estándar, cada ciclo de análisis consistió en la captura de la proteína de fusión

que se iba a analizar en la superficie anti-F(ab')$_2$, seguida de la inyección de albúmina y, por último, la regeneración de la superficie mediante 60 inyecciones de HCl 50 mM y NaOH 5 mM. Los analitos se inyectaron (300 s a 25 °C a un caudal de 30 µl/min) utilizando una dilución en serie doble en tampón de funcionamiento HBS-EP+ (Cytiva) a concentraciones de 100, 50, 25, 12,5, 6,3 y 3,1 nM, tras lo cual se monitorizó la disociación durante 900 s. Se restó la respuesta de unión de una superficie en blanco paralela y se incluyeron inyecciones en blanco de tampón para restar el ruido y la deriva del instrumento.

Ejemplo 1. FST-Fab- da lugar a niveles de expresión y rendimiento de monómeros superiores a los de otros socios de fusión.

La comparación de los niveles relativos de expresión del resto de folistatina fusionada con varios socios de fusión y en diferentes orientaciones revela que las construcciones FST-Fab fusionadas en el C-terminal del resto FST son óptimas (Fig. 2A). Tener un Fc o un ScFv fusionado al C-terminal de FST es significativamente inferior a usar un Fab en esta posición, dando ambos una reducción de 3,5 veces en el producto expresado (Fig. 2A). La fusión de un resto Fab en el N-terminal del resto FST conduce a una caída de aproximadamente el 45 % en la cantidad de producto expresado, aunque es mejor que las proteínas de fusión que comprenden FST fusionado a un dominio Fc. Una evaluación comparativa del efecto sobre la expresión utilizando FST288- o FST315 fusionado a un Fab en el C-terminal de la folistatina utilizando secuencias de tipo salvaje de HBM reveló solo diferencias marginales (Fig. 2B). La versión FST315 tuvo una expresión un 6 % menor que la fusión FST288. Una comparación de las fusiones que contenían el

HBSM (HBM) reveló una modesta disminución del 7 % en los niveles de expresión en comparación con el tipo salvaje.
Un examen comparativo de las distintas fusiones FST reveló que las fracciones Fab fusionadas con el extremo C-terminal del resto FST ofrecían el mayor nivel de rendimiento final de monómeros en comparación con las demás fusiones (Fig. 2C). La fusión FST-Fc dio el menor rendimiento de monómero del conjunto, siendo casi 6 veces peor que la fusión FST-Fab. El FST-ScFv y el FST fusionado en el N-terminal de un Fab fueron aproximadamente 3 y 4 veces peores, respectivamente.

Ejemplo 2 - FST315(HBM)-Fab muestra propiedades farmacocinéticas ampliadas en comparación con FST315WT en estudios con ratones.

FST315WT, FST288WT y FST288-Fab administrados por vía intravenosa (IV) a 10 mg/kg en ratones se eliminaron muy rápidamente, con un tiempo de residencia medio (TRM) de 1,6 horas, 2,3 horas y 5,2 horas, respectivamente. En comparación, FST315-Fab, FST315(HBM)-Fab y FST288HBM-Fab administrados IV a 10 mg/kg en ratones mostraron una cinética prolongada, con un TRM de 9,3 horas, 13,1 horas y 11 horas, respectivamente, (Figuras 3A y B). Todos los parámetros farmacocinéticos se resumen en la Tabla 1.
Conclusiones: El ejemplo 2 muestra que fue posible ampliar en gran medida la cinética y la vida media de una proteína que contiene FST gracias a la fusión entre un resto FST y un resto Fab. La mutación del sitio de unión a la heparina en forma de las versiones HBM de las moléculas de folistatina también contribuye de manera significativa a la cinética ampliada.

Ejemplo 3 – FST315-Fab, FST315HBM-Fab, FST288-Fab y FST288HBM-Fab muestran una unión de alta afinidad hacia sus ligandos y la albúmina

La folistatina tiene cuatro ligandos de alta afinidad: activina A, activina B, GDF8 (miostatina) y GDF11. La unión de FST315-Fab, FST315HBM-Fab, FST288-Fab y FST288HBM-Fab a estos ligandos se ha confirmado utilizando métodos de unión de resonancia de plasma superficial (SPR) y confirmó que la afinidad de unión Kd está dentro del rango esperado como se resume en la Tabla 2 (en vista de la literatura, ver Sidis et al., 2006). Los valores Kd de afinidad obtenidos para todas las proteínas de fusión de folistatina para sus ligandos específicos concuerdan bien con los valores de la literatura descritos para el tipo salvaje, no conjugado FST288WT y FST315WT vinculante a la activina A de 23,6 pM y 28,7 pM, respectivamente (Sidis et al., 2006). Las propiedades de unión a albúmina humana del componente del dominio Fab de FST315(HBM)-Fab también se confirmaron mediante SPR y el valor de 2602 pM estaba en consonancia con las expectativas de un aglutinante activo de albúmina. El valor de Kd para la unión a albúmina de FST315(HBM)-Fab también concuerda estrechamente con los valores publicados con anterioridad para la unión a albúmina humana de Fab solo (que se cita en Adams et al., 2016, como 2-5nM; refiriéndose a diferentes formatos de 645gL4gH5 Fab).

Conclusiones: El Ejemplo 2 subraya que se mantuvieron las actividades biológicas esperadas de las moléculas FST-Fab, es decir, la fusión entre las dos moléculas no afecta a las actividades de unión ni de la molécula de folistatina a sus respectivos ligandos biológicos ni de la molécula Fab a la albúmina.

Ejemplo 4 – FST315(HBM)-Fab y FST288(HBM)-Fab muestran inhibición funcional hacia sus ligandos en un ensayo de célula de gen reportero

A continuación, se comprobó la capacidad del FST315(HBM)-Fab para inhibir la señalización funcional de los cuatro ligandos mediante el ensayo celular del gen reportero Smad2/3, realizado en la línea celular comercial HEK-BlueTM-TGFβ. Los cuatro ligandos se utilizaron aproximadamente a su concentración EC_{50} para inducir una estimulación de la activación del gen informador y, a continuación, FST315(HBM)-Fab y FST315WT se valoraron en un amplio intervalo de concentraciones para generar las curvas dosis-respuesta representadas en la Figura 4A. En la Tabla 3 se resumen los datos de IC50 de la media geométrica para los cuatro ligandos. Se observó que el formato FST315(HBM)-Fab era sistemáticamente 3 veces más potente que el FST315WT parental cuando la respuesta se inducía con los ligandos Activina A y Activina B, y 2 veces más potente cuando se empleaban los ligandos GDF8 y GDF11. De forma similar, FST288(HBM)-Fab y FST288WT se valoraron en un amplio rango de concentraciones para generar curvas dosis-respuesta frente a los cuatro ligandos utilizados en sus concentraciones EC50 aproximadas; en la Figura 4B se presentan datos representativos y en la Tabla 3 se resumen los datos de IC_{50} de la media geométrica para los cuatro ligandos. A diferencia de los datos de los formatos FST315, el formato de molécula FST288(HBM)-Fab demostró una eficacia muy similar a la molécula madre FST288WT frente a los cuatro ligandos.

Conclusiones: El ejemplo no solo muestra que FST315(HBM)-Fab no era inferior a la proteína FST315WT en su capacidad para inhibir la señalización inducida por ligando a través de la vía reportera Smad2/3, sino que FST315(HBM)-Fab presentaba una potencia mejorada en comparación con

FST315WT, lo que pone de relieve su relevancia en un entorno terapéutico. Esto contrasta con la potencia de FST288(HBM)-Fab, que fue muy comparable a la de la molécula FST288WT.

Ejemplo 5 – Las fusiones FST-Fab con un dominio VH3 humano permiten la recuperación mediante cromatografía de proteína A

Se prepararon fusiones FST315HBM-Fab (FST-Fab1) en las que la FST se fusiona con una F(ab') antialbúmina que contiene un dominio VH3 humano (proteína de fusión de SEQ ID NO: 8) que permite la cromatografía de proteína A. Se prepararon dos construcciones FST-F(ab') alternativas que no comprenden un dominio VH3 humano (FST-Fab2 y FST-Fab3).

Se prepararon dos constructos FST-F(ab') alternativos que no contienen un dominio VH3 humano (FST-Fab2 y FST-Fab3). Todos los constructos se expresaron y purificaron según los métodos descritos con anterioridad. Como se muestra en la Tabla 4, solo la FST-Fab1, que contenía un dominio VH3 humano, se recuperó tras la cromatografía de proteína A. Las tres proteínas de fusión se pudieron purificar de acuerdo con los métodos descritos con anterioridad. Las tres proteínas de fusión pudieron recuperarse mediante cromatografía de proteína G.

Típicamente, la elución de proteínas unidas a resinas de captura por afinidad de proteína A se lleva a cabo en condiciones ácidas (véase la sección material y métodos anterior). Sin embargo, los inventores descubrieron que la FST-Fab1 de la invención eluye eficazmente de la proteína A en condiciones ligeramente alcalinas, mientras que el resto Fab permanece fuertemente unida.

Los sobrenadantes clarificados de FST-Fab 1 se cargaron en una columna MabSelect (GE Healthcare) equilibrada en acetato de sodio 50 mM pH 5,8 y posteriormente se lavaron

con el mismo tampón. El material ligado se eluyó en condiciones ácidas (0,1 M Glicina-HCl pH 2,6) o alcalinas (50 mM Glicina-NaOH pH 8,6). A continuación se realizó otra tira ácida (0,1 M Citrato pH 2,0). Los grupos de eluciones y tiras ácidas se neutralizaron con Tris/HCl 2M pH 8,5. Estas muestras de elución y de tira se analizaron mediante SDS-PAGE y exclusión analítica por tamaño.

Los resultados se muestran en la Figura 5. El análisis por SDS-PAGE muestra que tras la elución en condiciones ácidas (carril 2) hay una banda a ~50 kDa que indica que cualquier Fab producido durante la expresión se eluye en estas condiciones. El carril 3, que contiene la banda subsiguiente, no contiene ninguna proteína, ya que toda ha sido eliminada por la elución ácida. Alternativamente, en condiciones ligeramente alcalinas (carril 4) no hay banda presente para el Fab. El Fab no se eluye de la columna hasta la tira ácida (carril 5) donde hay una banda a ~50 kDa como se ve en la elución ácida.

Como se muestra en la Figura 6, el análisis por cromatografía de exclusión por tamaño muestra que solo el pool de elución ácida (panel A) tiene un pico correspondiente al Fab ("F") que está ausente del pool de elución alcalina (panel B). Hay poca o ninguna proteína en la tira que siguió a la elución ácida (panel C), ya que toda la proteína ya había sido eluida por la elución ácida, mientras que la tira que siguió a la elución alcalina (panel D) contiene un pico correspondiente al Fab.

La elución eficaz de la proteína de fusión FST-Fab de la invención a partir de la proteína A en condiciones ligeramente alcalinas es una propiedad única de esta molécula. Presenta varias ventajas potenciales con respecto al proceso posterior. En primer lugar, al no utilizar condiciones de elución ácidas es posible evitar la co-elución del Fab, ya que el Fab permanece fuertemente unido

a la Proteína A. Además, el Fst-Fab no se expone a pH ácidos fuertes durante un período prolongado. Por último, la elución alcalina es compatible con los pasos cromatográficos posteriores, lo que significa una menor manipulación de la muestra y, por lo tanto, un aumento potencial del rendimiento y la recuperación.

Ejemplo 6 – Producción de líneas celulares estables

Todos los ejemplos anteriores se realizaron con proteínas de fusión FST expresadas transitoriamente (según la sección "Materiales y métodos" anterior), este ejemplo se centra en la obtención de líneas celulares estables para producir las proteínas de fusión FST según la invención.

Transfección de la línea celular huésped: Las células huésped CHO DG44 (dhfr-) se transfectaron con un plásmido de vector génico doble de ADN para la expresión estable de la molécula Fab FST315(HBM)-645 humana (es decir, que codifica SEQ ID NO: 8 y SEQ ID NO: 6) y un marcador seleccionable dihidrofolato reductasa (DHFR). El vector se linealizó antes de la electroporación. Las células se electroporaron y luego se dejaron recuperar en una incubadora estática con temperatura y CO2 controlados en medio de crecimiento de células huésped durante 24 h, antes de cultivarlas en medio selectivo.

En total se recuperaron 167 minicélulas y se cultivaron en medio selectivo que contenía metotrexato. Basándose en el título de anticuerpos, 70 minipooles se llevaron a evaluación en cultivos de matraz agitador. En función del título de mAb por lotes a los 10 días, se seleccionaron los 24 mejores minipooles para su evaluación en los biorreactores automatizados a microescala AMBR.

Se seleccionaron los 7 mejores minipools (MP) para la clonación unicelular. Las células de cada MP se centrifugaron y el sedimento se resuspendió en PBS. A

continuación, cada suspensión celular de MP se analizó individualmente mediante citometría de flujo. Tras la clonación unicelular, los 54 clones con mayor título de anticuerpos se expandieron a matraces agitados para la evaluación por lotes.

Se eligieron 12 clones de alta expresión y se evaluaron en varios procesos por lotes alimentados en el sistema de biorreactor a microescala AMBR utilizando un medio químicamente definido y sin origen animal para evaluar el crecimiento celular de los clones, el título de anticuerpos, la productividad específica y la calidad del producto.

Se seleccionó un clon principal y se llevaron a cabo series de producción en biorreactores Wave y matraces Shake de 5 litros utilizando el mejor proceso por lotes alimentado determinado previamente.

Se muestra la concentración total de producto alcanzada en dos medios diferentes y procesos por lotes alimentados a partir de 4 clones diferentes (véase la Figura. 7). Este ejemplo muestra que un aspecto a tener en cuenta, si se desea mejorar posiblemente el rendimiento de producción de una proteína de fusión FST según la invención, es el conjunto de medios (medio basal así como medio/medios de alimentación) a utilizar para su producción. Como se muestra en la Figura 7, aunque el clon 156 se produjo generalmente a aproximadamente 1 g/L a pequeña escala, el uso del medio basal A en combinación con el proceso por lotes alimentado 2 (FB2) condujo a una duplicación del título en comparación con el proceso por lotes alimentado 1 (FB1). Como otro ejemplo, el clon 51 se produjo a aproximadamente 1,2-1,3 g/L en presencia del medio basal A (cualquiera que fuera el medio/medio de alimentación), pero dicha producción cayó por debajo de 1 g/L con el medio basal B.

Tabla 1 – Parámetros farmacocinéticos del ejemplo 2

	FST315 WT	**FST315-Fab**	**FST315 HBM-Fab**	**FST288 WT**	**FST288-Fab**	**FST288 HBM-Fab**
CL (mL/h/kg)	162	28,6	2,98	324	592	34,2
V_{ss} (L/kg)	0,26	0,25	0,039	0,78	ND*	0,38
$T_{1/2}$ (h)	4,0	16,3	23,1	3,7	7,8	27
MRT_{last} (h)	1,6	9,3	13,1	2,3	5,2	11

* No determinado

Tabla 2 – Afinidad de unión Kd (del ensayo Biacore) del ejemplo 3

Valores Kd de Biacore (pM)					
Ligandos	**Activina A**	**Activina B**	**GDF8**	**GDF11**	**Albúmina humana**
FST315WT-Fab	200	69	150	NA*	NA*
FST315HBM-Fab	11	11	2300	1250	2602
FST288WT-Fab	32	71	240	NA*	NA*
FST288HBM-Fab	42	50	170	NA*	NA*

* No disponible

Tabla 3 – Datos de IC_{50} del ejemplo 4

Resti de folistatina	**Activina A**	**Activina B**	**GDF8/ Miostatina**	**GDF11**

	IC50 (nM)	Rango (nM)	IC50 (nM)	Rango (nM)	IC50 (nM)	Rango (nM)	IC50 (nM)	Rango (nM)
FST315HBM -Fab (n=7)	0,10	0,068 -0,11	0,46	0,32-0,62	1,40	1,23-1,7	4,24	2,33-12,2
FST315WT (n=4)	0,31	0,26-0,37	1,57	0,92-2,16	3,08	1,8-3,93	8,37	5,44-18,1
FST288HBM -Fab (n=4)	0,14	0,13-0,14	0,50	0,3-1,17	0,45	0,32-0,5	0,65	0,51-0,84
FST288WT (n=4)	0,14	0,13-0,15	0,45	0,22-1,4	0,73	0,59-0,82	0,77	0,64-0,95

Tabla 4 – Recuperación poscromatografía de afinidad de las diferentes constructos del Ejemplo 5

	Dominio VH3 humano	Recuperación poscromatografía de afinidad (%)	
		Proteína A	Proteína G*
FST-Fab 1	Yes	80	100
FST-Fab 2	No	-	91
FST- Fab 3	No	-	108

** Todos los datos de esta tabla se han normalizado a partir de los resultados de la recuperación de la proteína G para FST-Fab1 (considerada al 100 %).

REFERENCIAS

1. WO2015/187977

2. WO2017/152090

3. Sidis et al. (2005) Endocrinology 146(1):130-136

7. http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/

8. http://www.ebi.ac.uk/Tools/emboss/

9. WO2013/068571

10. "Current Protocols in Molecular Biology" (1999) F. M. Ausubel (ed), Wiley Interscience, New York and the Maniatis Manual produced by Cold Spring Harbor Publishing

11. Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003, pp. 245-254, describing expression of antibody fragments in E. coli.)

12. Gerngross et al (2004), Nat. Biotech. 22: 1409-1414

13. Li et al. (2006) Nat. Biotech. 24:210-215.

14. Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Alfonso R. Gennaro (Editor) Mack Publishing Company, April 1997

15. Cain et al. (2013) Biotechnol Prog. 29(3): 697-706.

16. Adams et al. (2016) MABS 8(7): 1336-1346.

17. Sidis et al. (2006) Endocrinology 147(7):3586-3597

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en" dtdVersion="V1_3"
fileName="PF0412 sequence listing ST26.xml" softwareName="WIPO Sequence"
softwareVersion="2.2.0" productionDate="2023-06-08">
	<ApplicantFileReference>PF0412</ApplicantFileReference>
	<EarliestPriorityApplicationIdentification>
		<IPOfficeCode>EP</IPOfficeCode>
		<ApplicationNumberText>PCT/EP2022/066334</ApplicationNumberText>
		<FilingDate>2022-06-15</FilingDate>
	</EarliestPriorityApplicationIdentification>
	<ApplicantName languageCode="en">UCB BIOPHARMA SRL</ApplicantName>
	<InventionTitle languageCode="en">Proteínas de fusión</InventionTitle>
	<SequenceTotalQuantity>66</SequenceTotalQuantity>
	<SequenceData sequenceIDNumber="1">
		<INSDSeq>
			<INSDSeq_length>315</INSDSeq_length>
			<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
			<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
			<INSDSeq_feature-table>
				<INSDFeature>
					<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

	<INSDFeature_location>1..315</INSDFeature_location>
					<INSDFeature_quals>
						<INSDQualifier>

	<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

	<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
						</INSDQualifier>
						<INSDQualifier id="q2">

	<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
							<INSDQualifier_value>Homo
sapiens</INSDQualifier_value>
						</INSDQualifier>
					</INSDFeature_quals>
				</INSDFeature>
			</INSDSeq_feature-table>

	<INSDSeq_sequence>GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNG
GAPNCIPCKETCENVDCGPGKKCRMNKKNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQ
GRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKC
```

IKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCASADNTYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCN
SISEDTEEEEEDEDQDYSFPISSILEW</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="2">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>288</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..288</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q4">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Homo
sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNG
GAPNCIPCKETCENVDCGPGKKCRMNKKNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQ
GRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKC
IKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCASADNTYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCN
</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="3">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>315</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>

```
                                <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

        <INSDFeature_location>1..315</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                        <INSDQualifier>

        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

        <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                        <INSDQualifier id="q6">

        <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                </INSDSeq_feature-table>

        <INSDSeq_sequence>GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNG
GAPNCIPCKETCENVDCGPGKACRMNAANKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQ
GRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKC
IKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCASADNTYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCN
SISEDTEEEEEDEDQDYSFPISSILEW</INSDSeq_sequence>
              </INSDSeq>
        </SequenceData>
        <SequenceData sequenceIDNumber="4">
              <INSDSeq>
                      <INSDSeq_length>288</INSDSeq_length>
                      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                      <INSDSeq_feature-table>
                              <INSDFeature>
                                      <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

        <INSDFeature_location>1..288</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                        <INSDQualifier>

        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

        <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                        <INSDQualifier id="q8">
```

```
<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                            </INSDFeature>
                        </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNG
GAPNCIPCKETCENVDCGPGKACRMNAANKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQ
GRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKC
IKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCASADNTYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCN
</INSDSeq_sequence>
            </INSDSeq>
        </SequenceData>
        <SequenceData sequenceIDNumber="5">
            <INSDSeq>
                <INSDSeq_length>224</INSDSeq_length>
                <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                <INSDSeq_feature-table>
                    <INSDFeature>
                        <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..224</INSDFeature_location>
                        <INSDFeature_quals>
                            <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                            </INSDQualifier>
                            <INSDQualifier id="q10">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                            </INSDQualifier>
                        </INSDFeature_quals>
                    </INSDFeature>
                </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWAS
GTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPL
```

APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP
SNTKVDKKVEPKSC</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="6">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>217</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..217</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q12">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEASK
LTSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGGGYSSISDTTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT
ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVADNLQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK
SFNRGEC</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="7">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

```
<INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
                            <INSDFeature_quals>
                                  <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                  </INSDQualifier>
                                  <INSDQualifier id="q14">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                  </INSDQualifier>
                            </INSDFeature_quals>
                      </INSDFeature>
                </INSDSeq_feature-table>
                <INSDSeq_sequence>SGGGGS</INSDSeq_sequence>
          </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="8">
          <INSDSeq>
                <INSDSeq_length>545</INSDSeq_length>
                <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                <INSDSeq_feature-table>
                      <INSDFeature>
                            <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..545</INSDFeature_location>
                            <INSDFeature_quals>
                                  <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                  </INSDQualifier>
                                  <INSDQualifier id="q16">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                  </INSDQualifier>
                            </INSDFeature_quals>
```

```
                        </INSDFeature>
                    </INSDSeq_feature-table>

      <INSDSeq_sequence>GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNG
GAPNCIPCKETCENVDCGPGKACRMNAANKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQ
GRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKC
IKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCASADNTYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCN
SISEDTEEEEEDEDQDYSFPISSILEWSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGL
EWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT
YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC</INSDSeq_sequence>
            </INSDSeq>
      </SequenceData>
      <SequenceData sequenceIDNumber="9">
            <INSDSeq>
                    <INSDSeq_length>539</INSDSeq_length>
                    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                    <INSDSeq_feature-table>
                        <INSDFeature>
                            <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

      <INSDFeature_location>1..539</INSDFeature_location>
                            <INSDFeature_quals>
                                <INSDQualifier>

      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

      <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                </INSDQualifier>
                                <INSDQualifier id="q18">

      <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                </INSDQualifier>
                            </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                    </INSDSeq_feature-table>

      <INSDSeq_sequence>GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNG
GAPNCIPCKETCENVDCGPGKACRMNAANKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQ
GRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKC
IKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCASADNTYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCN
SISEDTEEEEEDEDQDYSFPISSILEWEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGII
```

WASGTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVSSASTKGPSV
FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSC</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>518</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..518</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q20">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNG
GAPNCIPCKETCENVDCGPGKACRMNAANKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQ
GRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKC
IKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCASADNTYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCN
SGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRD
NSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC</IN
SDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="11">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>512</INSDSeq_length>

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..512</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q22">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNG
GAPNCIPCKETCENVDCGPGKACRMNAANKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQ
GRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKC
IKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCASADNTYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCN
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTV
YLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC</INSDSeq_
sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="12">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>29</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..29</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
```

```
                                        <INSDQualifier>

        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

        <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                        <INSDQualifier id="q24">

        <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                </INSDSeq_feature-table>

        <INSDSeq_sequence>MVRARHQPGGLCLLLLLLCQFMEDRSAQA</INSDSeq_sequence>
                </INSDSeq>
        </SequenceData>
        <SequenceData sequenceIDNumber="13">
                <INSDSeq>
                        <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
                        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                        <INSDSeq_feature-table>
                                <INSDFeature>
                                        <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

        <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
                                        <INSDFeature_quals>
                                        <INSDQualifier>

        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

        <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                        <INSDQualifier id="q26">

        <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                </INSDSeq_feature-table>
```

```
                <INSDSeq_sequence>QSSPSVWSNFLS</INSDSeq_sequence>
            </INSDSeq>
        </SequenceData>
        <SequenceData sequenceIDNumber="14">
            <INSDSeq>
                <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
                <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                <INSDSeq_feature-table>
                    <INSDFeature>
                        <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
                        <INSDFeature_quals>
                            <INSDQualifier>

        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

        <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                            </INSDQualifier>
                            <INSDQualifier id="q28">

        <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                            </INSDQualifier>
                        </INSDFeature_quals>
                    </INSDFeature>
                </INSDSeq_feature-table>
                <INSDSeq_sequence>EASKLTS</INSDSeq_sequence>
            </INSDSeq>
        </SequenceData>
        <SequenceData sequenceIDNumber="15">
            <INSDSeq>
                <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
                <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                <INSDSeq_feature-table>
                    <INSDFeature>
                        <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
                        <INSDFeature_quals>
                            <INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                    <INSDQualifier id="q30">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                              </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                  </INSDSeq_feature-table>
                  <INSDSeq_sequence>GGGYSSISDTT</INSDSeq_sequence>
            </INSDSeq>
      </SequenceData>
      <SequenceData sequenceIDNumber="16">
            <INSDSeq>
                  <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
                  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                  <INSDSeq_feature-table>
                        <INSDFeature>
                              <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
                              <INSDFeature_quals>
                                    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                    <INSDQualifier id="q32">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                              </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                  </INSDSeq_feature-table>
                  <INSDSeq_sequence>GIDLSNYAIN</INSDSeq_sequence>
            </INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="17">
	<INSDSeq>
		<INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
		<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
		<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
		<INSDSeq_feature-table>
			<INSDFeature>
				<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
				<INSDFeature_quals>
					<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
					</INSDQualifier>
					<INSDQualifier id="q34">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
						<INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
					</INSDQualifier>
				</INSDFeature_quals>
			</INSDFeature>
		</INSDSeq_feature-table>
		<INSDSeq_sequence>IIWASGTTFYATWAKG</INSDSeq_sequence>
	</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
	<INSDSeq>
		<INSDSeq_length>13</INSDSeq_length>
		<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
		<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
		<INSDSeq_feature-table>
			<INSDFeature>
				<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
				<INSDFeature_quals>
					<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                    <INSDQualifier id="q36">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                              </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                  </INSDSeq_feature-table>
                  <INSDSeq_sequence>TVPGYSTAPYFDL</INSDSeq_sequence>
            </INSDSeq>
      </SequenceData>
      <SequenceData sequenceIDNumber="19">
            <INSDSeq>
                  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
                  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                  <INSDSeq_feature-table>
                        <INSDFeature>
                              <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
                              <INSDFeature_quals>
                                    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                    <INSDQualifier id="q38">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                              </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                  </INSDSeq_feature-table>
                  <INSDSeq_sequence>SGGGGSSGGGGS</INSDSeq_sequence>
            </INSDSeq>
      </SequenceData>
      <SequenceData sequenceIDNumber="20">
```

```
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q40">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GGGGS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="21">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
```

```
                                        <INSDQualifier id="q42">

      <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                  </INSDSeq_feature-table>
                  <INSDSeq_sequence>GGGGSGGGGS</INSDSeq_sequence>
            </INSDSeq>
      </SequenceData>
      <SequenceData sequenceIDNumber="22">
            <INSDSeq>
                  <INSDSeq_length>315</INSDSeq_length>
                  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                  <INSDSeq_feature-table>
                        <INSDFeature>
                              <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

      <INSDFeature_location>1..315</INSDFeature_location>
                              <INSDFeature_quals>
                                        <INSDQualifier>

      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

      <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                        <INSDQualifier id="q44">

      <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                        <INSDFeature>
                              <INSDFeature_key>VARIANTE</INSDFeature_key>

      <INSDFeature_location>76</INSDFeature_location>
                              <INSDFeature_quals>
                                        <INSDQualifier id="q139">

      <INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
```

```
                                                <INSDQualifier_value>cualquier
aminoácido</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                        <INSDFeature>
                                <INSDFeature_key>VARIANTE</INSDFeature_key>

        <INSDFeature_location>81..82</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                        <INSDQualifier id="q140">

        <INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>cualquier
aminoácido</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                </INSDSeq_feature-table>

        <INSDSeq_sequence>GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNG
GAPNCIPCKETCENVDCGPGKXCRMNXXNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQ
GRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKC
IKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCASADNTYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCN
SISEDTEEEEEDEDQDYSFPISSILEW</INSDSeq_sequence>
            </INSDSeq>
        </SequenceData>
        <SequenceData sequenceIDNumber="23">
            <INSDSeq>
                <INSDSeq_length>288</INSDSeq_length>
                <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                <INSDSeq_feature-table>
                    <INSDFeature>
                        <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

        <INSDFeature_location>1..288</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                        <INSDQualifier>

        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

        <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                        <INSDQualifier id="q46">
```

```
<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                            </INSDFeature>
                            <INSDFeature>
                                <INSDFeature_key>VARIANTE</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>76</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                    <INSDQualifier id="q141">

<INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>cualquier
aminoácido</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                            </INSDFeature>
                            <INSDFeature>
                                <INSDFeature_key>VARIANTE</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>81..82</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                    <INSDQualifier id="q142">

<INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>cualquier
aminoácido</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                            </INSDFeature>
                        </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNG
GAPNCIPCKETCENVDCGPGKXCRMNXXNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQ
GRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKC
IKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCASADNTYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCN
</INSDSeq_sequence>
                </INSDSeq>
            </SequenceData>
            <SequenceData sequenceIDNumber="24">
                <INSDSeq>
                    <INSDSeq_length>539</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..539</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q48">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>VARIANTE</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>76</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q143">

<INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>cualquier
aminoácido</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>VARIANTE</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>81..82</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q144">

<INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>cualquier
aminoácido</INSDQualifier_value>
```

```
                                        </INSDQualifier>
                                  </INSDFeature_quals>
                            </INSDFeature>
                      </INSDSeq_feature-table>

      <INSDSeq_sequence>GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNG
GAPNCIPCKETCENVDCGPGKXCRMNXXNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQ
GRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKC
IKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCASADNTYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCN
SISEDTEEEEEDEDQDYSFPISSILEWEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGII
WASGTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVSSASTKGPSV
FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSC</INSDSeq_sequence>
            </INSDSeq>
      </SequenceData>
      <SequenceData sequenceIDNumber="25">
            <INSDSeq>
                  <INSDSeq_length>545</INSDSeq_length>
                  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                  <INSDSeq_feature-table>
                        <INSDFeature>
                              <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

      <INSDFeature_location>1..545</INSDFeature_location>
                              <INSDFeature_quals>
                                        <INSDQualifier>

      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

      <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                        <INSDQualifier id="q50">

      <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                              </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                        <INSDFeature>
                              <INSDFeature_key>VARIANTE</INSDFeature_key>

      <INSDFeature_location>76</INSDFeature_location>
                              <INSDFeature_quals>
```

```
                                        <INSDQualifier id="q145">

      <INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                              <INSDQualifier_value>cualquier
aminoácido</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                  </INSDFeature_quals>
                            </INSDFeature>
                            <INSDFeature>
                                  <INSDFeature_key>VARIANTE</INSDFeature_key>

      <INSDFeature_location>81..82</INSDFeature_location>
                                  <INSDFeature_quals>
                                        <INSDQualifier id="q146">

      <INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                              <INSDQualifier_value>cualquier
aminoácido</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                  </INSDFeature_quals>
                            </INSDFeature>
                      </INSDSeq_feature-table>

      <INSDSeq_sequence>GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNG
GAPNCIPCKETCENVDCGPGKXCRMNXXNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQ
GRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKC
IKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCASADNTYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCN
SISEDTEEEEEDEDQDYSFPISSILEWSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGL
EWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT
YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC</INSDSeq_sequence>
            </INSDSeq>
      </SequenceData>
      <SequenceData sequenceIDNumber="26">
            <INSDSeq>
                  <INSDSeq_length>512</INSDSeq_length>
                  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                  <INSDSeq_feature-table>
                        <INSDFeature>
                              <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

      <INSDFeature_location>1..512</INSDFeature_location>
                              <INSDFeature_quals>
                                    <INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                    <INSDQualifier id="q52">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                              </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                        <INSDFeature>
                              <INSDFeature_key>VARIANTE</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>76</INSDFeature_location>
                              <INSDFeature_quals>
                                    <INSDQualifier id="q147">

<INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>cualquier
aminoácido</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                              </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                        <INSDFeature>
                              <INSDFeature_key>VARIANTE</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>81..82</INSDFeature_location>
                              <INSDFeature_quals>
                                    <INSDQualifier id="q148">

<INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>cualquier
aminoácido</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                              </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                  </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNG
GAPNCIPCKETCENVDCGPGKXCRMNXXNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQ
GRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKC
IKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCASADNTYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCN
```

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTV
YLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC</INSDSeq_
sequence>
            </INSDSeq>
      </SequenceData>
      <SequenceData sequenceIDNumber="27">
            <INSDSeq>
                  <INSDSeq_length>518</INSDSeq_length>
                  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                  <INSDSeq_feature-table>
                        <INSDFeature>
                              <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

      <INSDFeature_location>1..518</INSDFeature_location>
                              <INSDFeature_quals>
                                    <INSDQualifier>

      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

      <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                    <INSDQualifier id="q54">

      <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                              </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                        <INSDFeature>
                              <INSDFeature_key>VARIANTE</INSDFeature_key>

      <INSDFeature_location>76</INSDFeature_location>
                              <INSDFeature_quals>
                                    <INSDQualifier id="q149">

      <INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>cualquier
aminoácido</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                              </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                        <INSDFeature>

```
                                <INSDFeature_key>VARIANTE</INSDFeature_key>

        <INSDFeature_location>81..82</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                        <INSDQualifier id="q150">

        <INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>cualquier
aminoácido</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                </INSDSeq_feature-table>

        <INSDSeq_sequence>GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNG
GAPNCIPCKETCENVDCGPGKXCRMNXXNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQ
GRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKC
IKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCASADNTYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCN
SGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRD
NSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC</IN
SDSeq_sequence>
            </INSDSeq>
        </SequenceData>
        <SequenceData sequenceIDNumber="28">
            <INSDSeq>
                <INSDSeq_length>539</INSDSeq_length>
                <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                <INSDSeq_feature-table>
                    <INSDFeature>
                        <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

        <INSDFeature_location>1..539</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                        <INSDQualifier>

        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

        <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                        <INSDQualifier id="q56">

        <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
```

```
                                                <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                        <INSDFeature>
                                <INSDFeature_key>VARIANTE</INSDFeature_key>

        <INSDFeature_location>300</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                        <INSDQualifier id="q151">

        <INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>cualquier
aminoácido</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                        <INSDFeature>
                                <INSDFeature_key>VARIANTE</INSDFeature_key>

        <INSDFeature_location>305..306</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                        <INSDQualifier id="q152">

        <INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>cualquier
aminoácido</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                </INSDSeq_feature-table>

        <INSDSeq_sequence>EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWAS
GTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPL
APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP
SNTKVDKKVEPKSCGNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNGGAPNCIPCKE
TCENVDCGPGKXCRMNXXNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQGRCKKTCRDV
FCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKCIKAKSCEDIQ
CTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCASADNTYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCNSISEDTEEEE
EDEDQDYSFPISSILEW</INSDSeq_sequence>
                </INSDSeq>
        </SequenceData>
        <SequenceData sequenceIDNumber="29">
                <INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length>545</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..545</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q58">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>VARIANTE</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>306</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q153">

<INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>cualquier
aminoácido</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>VARIANTE</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>311..312</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q154">

<INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
```

```
                                                <INSDQualifier_value>cualquier
aminoácido</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                </INSDSeq_feature-table>

        <INSDSeq_sequence>EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWAS
GTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPL
APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP
SNTKVDKKVEPKSCSGGGGSGNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNGGAPN
CIPCKETCENVDCGPGKXCRMNXXNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQGRCK
KTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKCIKAK
SCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCASADNTYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCNSISE
DTEEEEEDEDQDYSFPISSILEW</INSDSeq_sequence>
                </INSDSeq>
        </SequenceData>
        <SequenceData sequenceIDNumber="30">
                <INSDSeq>
                        <INSDSeq_length>512</INSDSeq_length>
                        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                        <INSDSeq_feature-table>
                                <INSDFeature>
                                        <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

        <INSDFeature_location>1..512</INSDFeature_location>
                                        <INSDFeature_quals>
                                                <INSDQualifier>

        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

        <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                                </INSDQualifier>
                                                <INSDQualifier id="q60">

        <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                                        <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                                </INSDQualifier>
                                        </INSDFeature_quals>
                                </INSDFeature>
                                <INSDFeature>
                                        <INSDFeature_key>VARIANTE</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>300</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                        <INSDQualifier id="q155">

<INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>cualquier
aminoácido</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                        <INSDFeature>
                                <INSDFeature_key>VARIANTE</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>305..306</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                        <INSDQualifier id="q156">

<INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>cualquier
aminoácido</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWAS
GTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPL
APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP
SNTKVDKKVEPKSCGNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNGGAPNCIPCKE
TCENVDCGPGKXCRMNXXNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQGRCKKTCRDV
FCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKCIKAKSCEDIQ
CTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCASADNTYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCN</INSDSeq_
sequence>
            </INSDSeq>
        </SequenceData>
        <SequenceData sequenceIDNumber="31">
            <INSDSeq>
                <INSDSeq_length>518</INSDSeq_length>
                <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                <INSDSeq_feature-table>
                    <INSDFeature>
                        <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..518</INSDFeature_location>
                            <INSDFeature_quals>
                                  <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                  </INSDQualifier>
                                  <INSDQualifier id="q62">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                  </INSDQualifier>
                            </INSDFeature_quals>
                      </INSDFeature>
                      <INSDFeature>
                            <INSDFeature_key>VARIANTE</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>306</INSDFeature_location>
                            <INSDFeature_quals>
                                  <INSDQualifier id="q157">

<INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>cualquier
aminoácido</INSDQualifier_value>
                                  </INSDQualifier>
                            </INSDFeature_quals>
                      </INSDFeature>
                      <INSDFeature>
                            <INSDFeature_key>VARIANTE</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>311..312</INSDFeature_location>
                            <INSDFeature_quals>
                                  <INSDQualifier id="q158">

<INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>cualquier
aminoácido</INSDQualifier_value>
                                  </INSDQualifier>
                            </INSDFeature_quals>
                      </INSDFeature>
                </INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDSeq_sequence>EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWAS
GTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPL
APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP
SNTKVDKKVEPKSCSGGGGSGNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNGGAPN
CIPCKETCENVDCGPGKXCRMNXXNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQGRCK
KTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKCIKAK
SCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCASADNTYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCN</IN
SDSeq_sequence>
            </INSDSeq>
      </SequenceData>
      <SequenceData sequenceIDNumber="32">
            <INSDSeq>
                  <INSDSeq_length>545</INSDSeq_length>
                  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                  <INSDSeq_feature-table>
                        <INSDFeature>
                              <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

      <INSDFeature_location>1..545</INSDFeature_location>
                              <INSDFeature_quals>
                                    <INSDQualifier>

      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

      <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                    <INSDQualifier id="q64">

      <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                              </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                  </INSDSeq_feature-table>

      <INSDSeq_sequence>GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNG
GAPNCIPCKETCENVDCGPGKKCRMNKKNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQ
GRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKC
IKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCASADNTYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCN
SISEDTEEEEEDEDQDYSFPISSILEWSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGL
EWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVSSAS
```

TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT
YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="33">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>539</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..539</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q66">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNG
GAPNCIPCKETCENVDCGPGKKCRMNKKNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQ
GRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKC
IKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCASADNTYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCN
SISEDTEEEEEDEDQDYSFPISSILEWEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGII
WASGTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVSSASTKGPSV
FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSC</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="34">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>518</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>

```
                    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                    <INSDSeq_feature-table>
                          <INSDFeature>
                                <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

      <INSDFeature_location>1..518</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                      <INSDQualifier>

      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

      <INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                      </INSDQualifier>
                                      <INSDQualifier id="q68">

      <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                            <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                      </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                          </INSDFeature>
                    </INSDSeq_feature-table>

      <INSDSeq_sequence>GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNG
GAPNCIPCKETCENVDCGPGKKCRMNKKNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQ
GRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKC
IKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCASADNTYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCN
SGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRD
NSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC</IN
SDSeq_sequence>
            </INSDSeq>
      </SequenceData>
      <SequenceData sequenceIDNumber="35">
            <INSDSeq>
                    <INSDSeq_length>512</INSDSeq_length>
                    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                    <INSDSeq_feature-table>
                          <INSDFeature>
                                <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

      <INSDFeature_location>1..512</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                      <INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>proteína</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                    <INSDQualifier id="q70">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                              </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                  </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>GNCWLRQAKNGRCQVLYKTELSKEECCSTGRLSTSWTEEDVNDNTLFKWMIFNG
GAPNCIPCKETCENVDCGPGKKCRMNKKNKPRCVCAPDCSNITWKGPVCGLDGKTYRNECALLKARCKEQPELEVQYQ
GRCKKTCRDVFCPGSSTCVVDQTNNAYCVTCNRICPEPASSEQYLCGNDGVTYSSACHLRKATCLLGRSIGLAYEGKC
IKAKSCEDIQCTGGKKCLWDFKVGRGRCSLCDELCPDSKSDEPVCASADNTYASECAMKEAACSSGVLLEVKHSGSCN
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRDNSKNTV
YLQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC</INSDSeq_
sequence>
            </INSDSeq>
      </SequenceData>
      <SequenceData sequenceIDNumber="36">
            <INSDSeq>
                  <INSDSeq_length>945</INSDSeq_length>
                  <INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
                  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                  <INSDSeq_feature-table>
                        <INSDFeature>
                              <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..945</INSDFeature_location>
                              <INSDFeature_quals>
                                    <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                    <INSDQualifier id="q75">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
```

```
                                                <INSDQualifier_value>Homo
sapiens</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                </INSDSeq_feature-table>

        <INSDSeq_sequence>gggaactgttggctgagacaggccaagaacggacgctgccaggtcctgtacaag
actgaattgtccaaggaagagtgctgctccaccggacggctgtcaaccagctggactgaagaggacgtgaacgacaac
accctcttcaagtggatgatcttcaacggtggcgcacctaactgtattccgtgtaaagaaacctgtgaaaacgtcgac
tgtggacccgggaagaagtgcaggatgaacaagaagaacaagccgcgctgcgtgtgtgcacctgactgctcgaacatc
acctggaagggcccagtctgtgggctggacggaaagacctaccggaacgaatgtgccctgctgaaggctcggtgcaag
gagcaaccggaactggaagtgcagtaccaggggcggtgcaagaaaacctgtcgggatgtgttttgccctggatcctcc
acttgcgtggtggaccagaccaacaacgcctactgtgtgacatgcaacaggatctgcccggagcctgcttcctcggag
cagtacctctgcggcaatgatggcgtgacctactcctccgcctgtcacttgcgcaaagccacttgcctgctgggacgc
agcatcgggctcgcctatgagggaaagtgtattaaggccaagtcctgcgaggacatccagtgcaccggcggaaagaag
tgcctctgggatttcaaagttggccggggcagatgctcgctgtgcgatgagctgtgcccggactcgaagtcggacgaa
cccgtctgtgctagcgataacgcgacctacgcatcggagtgcgccatgaaggaggccgcatgctctagcggagtgctg
ctggaggtcaagcactccggttcctgcaactccatcagcgaagataccgaagaagaagaggaagatgaggaccaggac
tattccttcccgatctcatccattctggaatgg</INSDSeq_sequence>
                </INSDSeq>
        </SequenceData>
        <SequenceData sequenceIDNumber="37">
                <INSDSeq>
                        <INSDSeq_length>864</INSDSeq_length>
                        <INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
                        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                        <INSDSeq_feature-table>
                                <INSDFeature>
                                        <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

        <INSDFeature_location>1..864</INSDFeature_location>
                                        <INSDFeature_quals>
                                                <INSDQualifier>

        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
                                                </INSDQualifier>
                                                <INSDQualifier id="q77">

        <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                                </INSDQualifier>
```

```
                                    </INSDFeature_quals>
                              </INSDFeature>
                        </INSDSeq_feature-table>

        <INSDSeq_sequence>gggaactgttggctgagacaggccaagaacggacgctgccaggtcctgtacaag
actgaattgtccaaggaagagtgctgctccaccggacggctgtcaaccagctggactgaagaggacgtgaacgacaac
accctcttcaagtggatgatcttcaacggtggcgcacctaactgtattccgtgtaaagaaacctgtgaaaacgtcgac
tgtggacccgggaagaagtgcaggatgaacaagaagaacaagccgcgctgcgtgtgtgcacctgactgctcgaacatc
acctggaagggcccagtctgtgggctggacggaaagacctaccggaacgaatgtgccctgctgaaggctcggtgcaag
gagcaaccggaactggaagtgcagtaccaggggcggtgcaagaaaacctgtcgggatgtgttttgccctggatcctcc
acttgcgtggtggaccagaccaacaacgcctactgtgtgacatgcaacaggatctgcccggagcctgcttcctcggag
cagtacctctgcggcaatgatggcgtgacctactcctccgcctgtcacttgcgcaaagccacttgcctgctgggacgc
agcatcgggctcgcctatgagggaaagtgtattaaggccaagtcctgcgaggacatccagtgcaccggcggaaagaag
tgcctctgggatttcaaagttggccggggcagatgctcgctgtgcgatgagctgtgcccggactcgaagtcggacgaa
cccgtctgtgctagcgataacgcgacctacgcatcggagtgcgccatgaaggaggccgcatgctctagcggagtgctg
ctggaggtcaagcactccggttcctgcaac</INSDSeq_sequence>
              </INSDSeq>
        </SequenceData>
        <SequenceData sequenceIDNumber="38">
              <INSDSeq>
                        <INSDSeq_length>945</INSDSeq_length>
                        <INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
                        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                        <INSDSeq_feature-table>
                              <INSDFeature>
                                    <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

        <INSDFeature_location>1..945</INSDFeature_location>
                                    <INSDFeature_quals>
                                          <INSDQualifier>

        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
                                          </INSDQualifier>
                                          <INSDQualifier id="q79">

        <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                          </INSDQualifier>
                                    </INSDFeature_quals>
                              </INSDFeature>
                        </INSDSeq_feature-table>
```

<INSDSeq_sequence>gggaactgttggctgagacaggccaagaacgggcgctgccaagtgttgtataag
accgagctgtcgaaggaggaatgctgcagcactggccggctttcaacctcctggaccgaagaagatgtcaacgataac
accctgttcaagtggatgatcttcaacggtggagcccccaactgcatcccgtgtaaagaaacttgcgaaaatgtggat
tgtggccccgggaaggcctgccggatgaacgcggccaacaagccgagatgcgtgtgtgcccccgactgctcgaacatc
acctggaagggacctgtgtgcggcctggacggaaagacctaccggaatgagtgcgccctgctgaaggcccggtgtaaa
gaacagcctgagttggaagtgcagtaccagggtcgctgcaagaaaacctgtcgggacgtgttctgtccgggctcctca
acttgcgtggtggaccagactaacaacgcctactgcgtgacttgcaacaggatctgcccagagccggcttcgtccgag
caatacctgtgcggaaacgacggcgtgacctactccagcgcgtgccatctccggaaggccacatgcctgctcggacgg
tccattggactggcctacgagggaaagtgcatcaaggctaagtcctgcgaagatattcagtgcaccggcggaaagaag
tgcctctgggacttcaaagtcggtagagggcgctgctctctgtgcgacgaactgtgcccagattccaagtccgacgag
cctgtctgtgcctccgacaacgcaacctacgcctccgaatgcgccatgaaggaagccgcgtgctcatccggagtgctg
cttgaagtcaagcactcgggctcgtgtaatagcatctccgaggacactgaggaggaagaggaagatgaagatcaggac
tacagctttccgatttcctcaatcttggagtgg</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="39">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>864</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..864</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q81">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>gggaactgttggctgagacaggccaagaacgggcgctgccaagtgttgtataag
accgagctgtcgaaggaggaatgctgcagcactggccggctttcaacctcctggaccgaagaagatgtcaacgataac

accctgttcaagtggatgatcttcaacggtggagcccccaactgcatcccgtgtaaagaaacttgcgaaaatgtggat
tgtggccccgggaaggcctgccggatgaacgcggccaacaagccgagatgcgtgtgtgcccccgactgctcgaacatc
acctggaagggacctgtgtgcggcctggacggaaagacctaccggaatgagtgcgccctgctgaaggcccggtgtaaa
gaacagcctgagttggaagtgcagtaccagggtcgctgcaagaaaacctgtcgggacgtgttctgtccgggctcctca
acttgcgtggtggaccagactaacaacgcctactgcgtgacttgcaacaggatctgcccagagccggcttcgtccgag
caatacctgtgcggaaacgacggcgtgacctactccagcgcgtgccatctccggaaggccacatgcctgctcggacgg
tccattggactggcctacgagggaaagtgcatcaaggctaagtcctgcgaagatattcagtgcaccggcggaaagaag
tgcctctgggacttcaaagtcggtagagggcgctgctctctgtgcgacgaactgtgcccagattccaagtccgacgag
cctgtctgtgcctccgacaacgcaacctacgcctccgaatgcgccatgaaggaagccgcgtgctcatccggagtgctg
cttgaagtcaagcactcgggctcgtgtaat</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="40">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>672</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..672</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q83">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>gaggttcagctgctggagtctggaggcgggcttgtccagcctggagggagcctg
cgtctctcttgtgcagtaagcggcatcgacctgtccaactacgcgattaactgggtacgtcaggcaccgggtaaaggt
ctggaatggatcggcatcatctgggcctctggtacgaccttctacgctacttgggccaaaggtcgtttcaccatctcc
cgtgacaatagcaaaaacaccgtgtacctgcagatgaactctctgcgtgcggaagacactgcggtttactattgcgcg
cgtaccgttccgggctattctactgcaccgtacttcgacctgtggggtcagggtactctggttaccgtctcgagcgct
tctacaaagggcccatcggtcttccccctggcaccctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgc

ctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttc
ccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccag
acctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaaatcttgt</INSD
Seq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="41">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>651</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..651</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q85">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>gatatccagatgacccagagtccaagcagtgtttccgccagcgtaggcgatcgt
gtgactattacctgtcagtcctctccgagcgtttggtccaacttcctgagctggtaccagcagaaaccgggtaaagcc
ccgaaactgctgatctacgaggcgtctaaactgacctctggtgtaccgtcccgtttcagcggctctggctctggtacg
gacttcactctgaccatctcctctctgcagccggaagactttgcaacgtactactgcggtggtggttactcttccatc
tctgacaccacgttcggtggtggcaccaaagttgaaatcaaacgtacggtagcggccccatctgtcttcatcttcccg
ccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaa
gtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagc
acctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacc
catcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="42">

```
<INSDSeq>
	<INSDSeq_length>18</INSDSeq_length>
	<INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
	<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
	<INSDSeq_feature-table>
		<INSDFeature>
			<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

	<INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
			<INSDFeature_quals>
				<INSDQualifier>

	<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
					<INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
				</INSDQualifier>
				<INSDQualifier id="q87">

	<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
					<INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
				</INSDQualifier>
			</INSDFeature_quals>
		</INSDFeature>
	</INSDSeq_feature-table>
	<INSDSeq_sequence>tcgggtggaggaggctca</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="43">
<INSDSeq>
	<INSDSeq_length>1635</INSDSeq_length>
	<INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
	<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
	<INSDSeq_feature-table>
		<INSDFeature>
			<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

	<INSDFeature_location>1..1635</INSDFeature_location>
			<INSDFeature_quals>
				<INSDQualifier>

	<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
					<INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
				</INSDQualifier>
```

```
                                        <INSDQualifier id="q89">

        <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                </INSDSeq_feature-table>

        <INSDSeq_sequence>gggaactgttggctgagacaggccaagaacgggcgctgccaagtgttgtataag
accgagctgtcgaaggaggaatgctgcagcactggccggctttcaacctcctggaccgaagaagatgtcaacgataac
accctgttcaagtggatgatcttcaacggtggagcccccaactgcatcccgtgtaaagaaacttgcgaaaatgtggat
tgtggccccgggaaggcctgccggatgaacgcggccaacaagccgagatgcgtgtgtgcccccgactgctcgaacatc
acctggaagggacctgtgtgcggcctggacggaaagacctaccggaatgagtgcgccctgctgaaggcccggtgtaaa
gaacagcctgagttggaagtgcagtaccagggtcgctgcaagaaaacctgtcgggacgtgttctgtccgggctcctca
acttgcgtggtggaccagactaacaacgcctactgcgtgacttgcaacaggatctgcccagagccggcttcgtccgag
caatacctgtgcggaaacgacggcgtgacctactccagcgcgtgccatctccggaaggccacatgcctgctcggacgg
tccattggactggcctacgagggaaagtgcatcaaggctaagtcctgcgaagatattcagtgcaccggcggaaagaag
tgcctctgggacttcaaagtcggtagagggcgctgctctctgtgcgacgaactgtgcccagattccaagtccgacgag
cctgtctgtgcctccgacaacgcaacctacgcctccgaatgcgccatgaaggaagccgcgtgctcatccggagtgctg
cttgaagtcaagcactcgggctcgtgtaatagcatctccgaggacactgaggaggaagaggaagatgaagatcaggac
tacagctttccgatttcctcaatcttggagtggtccggaggaggtggaagcgaagtccagctgctggaatcaggcgga
gggcttgtgcagcctgggggaagccttcggttgtcatgtgccgtgtccggtatcgacctgtccaactacgcaatcaac
tgggttagacaggcgccaggaaagggactggagtggattggcatcatctgggccagcgggactacgttctatgccacc
tgggccaagggtcgcttcaccatctcgcgggacaactcaaagaacacggtgtacctccagatgaactccctgagagct
gaggacactgccgtgtattactgcgcgagaaccgtacctggctactccactgccccctacttcgacctttggggacag
gggaccctggtcacagtgtccagcgcctcaaccaagggccccagcgtctttccgcttgccccgagctcgaagtcgacc
agcggaggcactgcagccctgggttgtctggtcaaggactacttccctgagcccgtgaccgtgtcatggaacagcggc
gccctcacttcgggcgtgcacacttttcctgcggtgctccagtcgtccgggctctactccctgtcatccgtggtcacc
gtgccgtcctcgtcactcggaacccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagccttccaacaccaaggtcgacaag
aaggtcgaacccaagtcctgc</INSDSeq_sequence>
                </INSDSeq>
        </SequenceData>
        <SequenceData sequenceIDNumber="44">
                <INSDSeq>
                        <INSDSeq_length>1617</INSDSeq_length>
                        <INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
                        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                        <INSDSeq_feature-table>
                                <INSDFeature>
                                        <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

        <INSDFeature_location>1..1617</INSDFeature_location>
                                        <INSDFeature_quals>
```

```
                                        <INSDQualifier>

      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                        <INSDQualifier id="q91">

      <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                  </INSDFeature_quals>
                            </INSDFeature>
                      </INSDSeq_feature-table>

      <INSDSeq_sequence>gggaactgttggctgagacaggccaagaacgggcgctgccaagtgttgtataag
accgagctgtcgaaggaggaatgctgcagcactggccggctttcaacctcctggaccgaagaagatgtcaacgataac
accctgttcaagtggatgatcttcaacggtggagcccccaactgcatcccgtgtaaagaaacttgcgaaaatgtggat
tgtggccccgggaaggcctgccggatgaacgcggccaacaagccgagatgcgtgtgtgcccccgactgctcgaacatc
acctggaagggacctgtgtgcggcctggacggaaagacctaccggaatgagtgcgccctgctgaaggcccggtgtaaa
gaacagcctgagttggaagtgcagtaccagggtcgctgcaagaaaacctgtcgggacgtgttctgtccgggctcctca
acttgcgtggtggaccagactaacaacgcctactgcgtgacttgcaacaggatctgcccagagccggcttcgtccgag
caatacctgtgcggaaacgacggcgtgacctactccagcgcgtgccatctccggaaggccacatgcctgctcggacgg
tccattggactggcctacgagggaaagtgcatcaaggctaagtcctgcgaagatattcagtgcaccggcggaaagaag
tgcctctgggacttcaaagtcggtagagggcgctgctctctgtgcgacgaactgtgcccagattccaagtccgacgag
cctgtctgtgcctccgacaacgcaacctacgcctccgaatgcgccatgaaggaagccgcgtgctcatccggagtgctg
cttgaagtcaagcactcgggctcgtgtaatagcatctccgaggacactgaggaggaagaggaagatgaagatcaggac
tacagctttccgatttcctcaatcttggagtgggaagtccagctgctggaatcaggcggagggcttgtgcagcctggg
ggaagccttcggttgtcatgtgccgtgtccggtatcgacctgtccaactacgcaatcaactgggttagacaggcgcca
ggaaagggactggagtggattggcatcatctgggccagcgggactacgttctatgccacctgggccaagggtcgcttc
accatctcgcgggacaactcaaagaacacggtgtacctccagatgaactccctgagagctgaggacactgccgtgtat
tactgcgcgagaaccgtacctggctactccactgccccctacttcgacctttggggacaggggaccctggtcacagtg
tccagcgcctcaaccaagggccccagcgtctttccgcttgccccgagctcgaagtcgaccagcggaggcactgcagcc
ctgggttgtctggtcaaggactacttccctgagcccgtgaccgtgtcatggaacagcggcgccctcacttcgggcgtg
cacacttttcctgcggtgctccagtcgtccgggctctactccctgtcatccgtggtcaccgtgccgtcctcgtcactc
ggaacccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagccttccaacaccaaggtcgacaagaaggtcgaacccaagtcc
tgc</INSDSeq_sequence>
            </INSDSeq>
      </SequenceData>
      <SequenceData sequenceIDNumber="45">
            <INSDSeq>
                  <INSDSeq_length>1554</INSDSeq_length>
                  <INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
                  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..1554</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q93">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>ggaaactgctggctgagacaggccaagaacggccgctgtcaagtgctgtacaag
accgagttgtccaaggaggaatgttgtagcaccggccggttgtccacctcctggaccgaggaggacgtgaacgataac
accctgttcaagtggatgattttcaacggcggtgccccaaattgcatcccctgcaaggagacttgcgaaaatgtggac
tgcggaccgggaaaggcctgtcggatgaacgctgcgaacaagccgcgctgcgtgtgtgccccggactgctccaacatc
acttggaagggccccgtgtgtggactggacggaaagacctaccgcaacgagtgcgccctgctgaaggcccggtgcaag
gagcaacctgagttagaagtgcaataccagggccggtgcaaaaagacttgccgcgatgtgttctgtcccgggtccagc
acttgcgtggtggatcagaccaacaacgcctactgcgtgacgtgcaaccggatttgcccagagccggcatcttccgaa
caatacctgtgcggcaacgatggcgtgacctactcgtccgcctgccatctccggaaggccacttgtctgctggggagg
tcgattggactcgcatacgaagggaagtgcattaaggctaagtcctgcgaggacatccagtgcaccggcggaaagaag
tgcctgtgggacttcaaagtcggaaggggtcggtgttccctgtgcgacgaactgtgtcccgactccaagtcggacgaa
cctgtgtgcgcgagcgataacgctacatacgcctcggaatgcgccatgaaagaggcggcttgctcatccggcgtcctg
ctggaagtgaagcattccggaagctgcaattccggaggaggtggaagcgaagtccagctgctggaatcaggcggaggg
cttgtgcagcctgggggaagccttcggttgtcatgtgccgtgtccggtatcgacctgtccaactacgcaatcaactgg
gttagacaggcgccaggaaagggactggagtggattggcatcatctgggccagcgggactacgttctatgccacctgg
gccaagggtcgcttcaccatctcgcgggacaactcaaagaacacggtgtacctccagatgaactccctgagagctgag
gacactgccgtgtattactgcgcgagaaccgtacctggctactccactgccccctacttcgacctttggggacagggg
accctggtcacagtgtccagcgcctcaaccaagggccccagcgtctttccgcttgccccgagctcgaagtcgaccagc
ggaggcactgcagccctgggttgtctggtcaaggactacttccctgagcccgtgaccgtgtcatggaacagcggcgcc
ctcacttcgggcgtgcacacttttcctgcggtgctccagtcgtccgggctctactccctgtcatccgtggtcaccgtg
ccgtcctcgtcactcggaacccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagccttccaacaccaaggtcgacaagaag
gtcgaacccaagtcctgc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="46">
        <INSDSeq>
                <INSDSeq_length>1536</INSDSeq_length>
                <INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
                <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                <INSDSeq_feature-table>
                        <INSDFeature>
                                <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..1536</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                        <INSDQualifier id="q95">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>ggaaactgctggctgagacaggccaagaacggccgctgtcaagtgctgtacaag
accgagttgtccaaggaggaatgttgtagcaccggccggttgtccacctcctggaccgaggaggacgtgaacgataac
accctgttcaagtggatgattttcaacggcggtgccccaaattgcatcccctgcaaggagacttgcgaaaatgtggac
tgcggaccgggaaaggcctgtcggatgaacgctgcgaacaagccgcgctgcgtgtgtgccccggactgctccaacatc
acttggaagggccccgtgtgtggactggacggaaagacctaccgcaacgagtgcgccctgctgaaggcccggtgcaag
gagcaacctgagttagaagtgcaataccagggccggtgcaaaaagacttgccgcgatgtgttctgtcccgggtccagc
acttgcgtggtggatcagaccaacaacgcctactgcgtgacgtgcaaccggatttgcccagagccggcatcttccgaa
caatacctgtgcggcaacgatggcgtgacctactcgtccgcctgccatctccggaaggccacttgtctgctggggagg
tcgattggactcgcatacgaagggaagtgcattaaggctaagtcctgcgaggacatccagtgcaccggcggaaagaag
tgcctgtgggacttcaaagtcggaaggggtcggtgttccctgtgcgacgaactgtgtcccgactccaagtcggacgaa
cctgtgtgcgcgagcgataacgctacatacgcctcggaatgcgccatgaaagaggcggcttgctcatccggcgtcctg
ctggaagtgaagcattccggaagctgcaatgaagtccagctgctggaatcaggcggagggcttgtgcagcctgggggga
agccttcggttgtcatgtgccgtgtccggtatcgacctgtccaactacgcaatcaactgggttagacaggcgccagga
aagggactggagtggattggcatcatctgggccagcgggactacgttctatgccacctgggccaagggtcgcttcacc
atctcgcgggacaactcaaagaacacggtgtacctccagatgaactccctgagagctgaggacactgccgtgtattac
tgcgcgagaaccgtacctggctactccactgccccctacttcgacctttggggacaggggaccctggtcacagtgtcc
agcgcctcaaccaagggccccagcgtctttccgcttgccccgagctcgaagtcgaccagcggaggcactgcagccctg
ggttgtctggtcaaggactacttccctgagcccgtgaccgtgtcatggaacagcggcgccctcacttcgggcgtgcac
```

actttcctgcggtgctccagtcgtccgggctctactccctgtcatccgtggtcaccgtgccgtcctcgtcactcgga
acccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagccttccaacaccaaggtcgacaagaaggtcgaacccaagtcctgc
</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="47">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>87</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..87</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q97">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>atggtccgggccagacaccagccgggaggtctttgtctgctgcttctgctgctc
tgccaattcatggaggatcggtccgcccaagct</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="48">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>36</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

```
<INSDFeature_location>1..36</INSDFeature_location>
                            <INSDFeature_quals>
                                  <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
                                  </INSDQualifier>
                                  <INSDQualifier id="q99">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                  </INSDQualifier>
                            </INSDFeature_quals>
                      </INSDFeature>
                </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>cagtcctctccgagcgtttggtccaacttcctgagc</INSDSeq_sequence
>
            </INSDSeq>
      </SequenceData>
      <SequenceData sequenceIDNumber="49">
            <INSDSeq>
                  <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
                  <INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
                  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                  <INSDSeq_feature-table>
                        <INSDFeature>
                              <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
                            <INSDFeature_quals>
                                  <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
                                  </INSDQualifier>
                                  <INSDQualifier id="q101">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
```

```
                                        </INSDQualifier>
                                    </INSDFeature_quals>
                            </INSDFeature>
                        </INSDSeq_feature-table>
                        <INSDSeq_sequence>gaggcgtctaaactgacctct</INSDSeq_sequence>
                    </INSDSeq>
            </SequenceData>
            <SequenceData sequenceIDNumber="50">
                    <INSDSeq>
                        <INSDSeq_length>33</INSDSeq_length>
                        <INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
                        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                        <INSDSeq_feature-table>
                            <INSDFeature>
                                <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

            <INSDFeature_location>1..33</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                        <INSDQualifier>

            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                        <INSDQualifier id="q103">

            <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                    </INSDFeature_quals>
                            </INSDFeature>
                        </INSDSeq_feature-table>

            <INSDSeq_sequence>ggtggtggttactcttccatctctgacaccacg</INSDSeq_sequence>
                    </INSDSeq>
            </SequenceData>
            <SequenceData sequenceIDNumber="51">
                    <INSDSeq>
                        <INSDSeq_length>30</INSDSeq_length>
                        <INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
                        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                        <INSDSeq_feature-table>
                            <INSDFeature>
                                <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..30</INSDFeature_location>
                            <INSDFeature_quals>
                                  <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
                                  </INSDQualifier>
                                  <INSDQualifier id="q105">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                  </INSDQualifier>
                            </INSDFeature_quals>
                      </INSDFeature>
                </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>ggcatcgacctgtccaactacgcgattaac</INSDSeq_sequence>
      </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="52">
      <INSDSeq>
            <INSDSeq_length>48</INSDSeq_length>
            <INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
            <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
            <INSDSeq_feature-table>
                  <INSDFeature>
                        <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..48</INSDFeature_location>
                            <INSDFeature_quals>
                                  <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
                                  </INSDQualifier>
                                  <INSDQualifier id="q107">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                  </INSDQualifier>
```

```
                                </INSDFeature_quals>
                            </INSDFeature>
                        </INSDSeq_feature-table>

        <INSDSeq_sequence>atcatctgggcctctggtacgaccttctacgctacttgggccaaaggt</INSD
Seq_sequence>
                </INSDSeq>
        </SequenceData>
        <SequenceData sequenceIDNumber="53">
                <INSDSeq>
                        <INSDSeq_length>39</INSDSeq_length>
                        <INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
                        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                        <INSDSeq_feature-table>
                            <INSDFeature>
                                <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

        <INSDFeature_location>1..39</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                    <INSDQualifier>

        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                    <INSDQualifier id="q109">

        <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                            </INSDFeature>
                        </INSDSeq_feature-table>

        <INSDSeq_sequence>accgttccgggctattctactgcaccgtacttcgacctg</INSDSeq_seque
nce>
                </INSDSeq>
        </SequenceData>
        <SequenceData sequenceIDNumber="54">
                <INSDSeq>
                        <INSDSeq_length>36</INSDSeq_length>
                        <INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
                        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                        <INSDSeq_feature-table>
```

```
                        <INSDFeature>
                              <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

      <INSDFeature_location>1..36</INSDFeature_location>
                              <INSDFeature_quals>
                                    <INSDQualifier>

      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                    <INSDQualifier id="q111">

      <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                              </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                  </INSDSeq_feature-table>

      <INSDSeq_sequence>tcgggtggaggaggctcatcgggtggaggaggctca</INSDSeq_sequence
>
            </INSDSeq>
      </SequenceData>
      <SequenceData sequenceIDNumber="55">
            <INSDSeq>
                  <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
                  <INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
                  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                  <INSDSeq_feature-table>
                        <INSDFeature>
                              <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

      <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
                              <INSDFeature_quals>
                                    <INSDQualifier>

      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                    <INSDQualifier id="q113">

      <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
```

```
                                                <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                </INSDSeq_feature-table>
                <INSDSeq_sequence>ggtggaggaggctca</INSDSeq_sequence>
        </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="56">
        <INSDSeq>
                <INSDSeq_length>30</INSDSeq_length>
                <INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
                <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                <INSDSeq_feature-table>
                        <INSDFeature>
                                <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..30</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                        <INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                        <INSDQualifier id="q115">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>ggtggaggaggctcaggtggaggaggctca</INSDSeq_sequence>
        </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="57">
        <INSDSeq>
                <INSDSeq_length>945</INSDSeq_length>
                <INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
                <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                <INSDSeq_feature-table>
```

```
                        <INSDFeature>
                              <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

      <INSDFeature_location>1..945</INSDFeature_location>
                              <INSDFeature_quals>
                                    <INSDQualifier>

      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                    <INSDQualifier id="q117">

      <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                              </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                        <INSDFeature>

      <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>

      <INSDFeature_location>226..228</INSDFeature_location>
                              <INSDFeature_quals>
                                    <INSDQualifier id="q159">

      <INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>n es a, c,
g o t</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                              </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                        <INSDFeature>

      <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>

      <INSDFeature_location>241..246</INSDFeature_location>
                              <INSDFeature_quals>
                                    <INSDQualifier id="q160">

      <INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>n es a, c,
g o t</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
```

```
                                </INSDFeature_quals>
                            </INSDFeature>
                        </INSDSeq_feature-table>

        <INSDSeq_sequence>gggaactgttggctgagacaggccaagaacgggcgctgccaagtgttgtataag
accgagctgtcgaaggaggaatgctgcagcactggccggctttcaacctcctggaccgaagaagatgtcaacgataac
accctgttcaagtggatgatcttcaacggtggagcccccaactgcatcccgtgtaaagaaacttgcgaaaatgtggat
tgtggccccgggaagnnntgccggatgaacnnnnnnaacaagccgagatgcgtgtgtgcccccgactgctcgaacatc
acctggaagggacctgtgtgcggcctggacggaaagacctaccggaatgagtgcgccctgctgaaggcccggtgtaaa
gaacagcctgagttggaagtgcagtaccagggtcgctgcaagaaaacctgtcgggacgtgttctgtccgggctcctca
acttgcgtggtggaccagactaacaacgcctactgcgtgacttgcaacaggatctgcccagagccggcttcgtccgag
caatacctgtgcggaaacgacggcgtgacctactccagcgcgtgccatctccggaaggccacatgcctgctcggacgg
tccattggactggcctacgagggaaagtgcatcaaggctaagtcctgcgaagatattcagtgcaccggcggaaagaag
tgcctctgggacttcaaagtcggtagagggcgctgctctctgtgcgacgaactgtgcccagattccaagtccgacgag
cctgtctgtgcctccgacaacgcaacctacgcctccgaatgcgccatgaaggaagccgcgtgctcatccggagtgctg
cttgaagtcaagcactcgggctcgtgtaatagcatctccgaggacactgaggaggaagaggaagatgaagatcaggac
tacagctttccgatttcctcaatcttggagtgg</INSDSeq_sequence>
            </INSDSeq>
        </SequenceData>
        <SequenceData sequenceIDNumber="58">
            <INSDSeq>
                <INSDSeq_length>864</INSDSeq_length>
                <INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
                <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                <INSDSeq_feature-table>
                    <INSDFeature>
                        <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

        <INSDFeature_location>1..864</INSDFeature_location>
                        <INSDFeature_quals>
                            <INSDQualifier>

        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                                <INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
                            </INSDQualifier>
                            <INSDQualifier id="q119">

        <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                            </INSDQualifier>
                        </INSDFeature_quals>
                    </INSDFeature>
                    <INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>226..228</INSDFeature_location>
                            <INSDFeature_quals>
                                  <INSDQualifier id="q161">

<INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>n es a, c,
g o t</INSDQualifier_value>
                                  </INSDQualifier>
                            </INSDFeature_quals>
                      </INSDFeature>
                      <INSDFeature>

<INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>241..246</INSDFeature_location>
                            <INSDFeature_quals>
                                  <INSDQualifier id="q162">

<INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>n es a, c,
g o t</INSDQualifier_value>
                                  </INSDQualifier>
                            </INSDFeature_quals>
                      </INSDFeature>
                </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>gggaactgttggctgagacaggccaagaacgggcgctgccaagtgttgtataag
accgagctgtcgaaggaggaatgctgcagcactggccggctttcaacctcctggaccgaagaagatgtcaacgataac
accctgttcaagtggatgatcttcaacggtggagcccccaactgcatcccgtgtaaagaaacttgcgaaaatgtggat
tgtggccccgggaagnnntgccggatgaacnnnnnnaacaagccgagatgcgtgtgtgcccccgactgctcgaacatc
acctggaagggacctgtgtgcggcctggacggaaagacctaccggaatgagtgcgccctgctgaaggcccggtgtaaa
gaacagcctgagttggaagtgcagtaccagggtcgctgcaagaaaacctgtcgggacgtgttctgtccgggctcctca
acttgcgtggtggaccagactaacaacgcctactgcgtgacttgcaacaggatctgcccagagccggcttcgtccgag
caatacctgtgcggaaacgacggcgtgacctactccagcgcgtgccatctccggaaggccacatgcctgctcggacgg
tccattggactggcctacgagggaaagtgcatcaaggctaagtcctgcgaagatattcagtgcaccggcggaaagaag
tgcctctgggacttcaaagtcggtagagggcgctgctctctgtgcgacgaactgtgcccagattccaagtccgacgag
cctgtctgtgcctccgacaacgcaacctacgcctccgaatgcgccatgaaggaagccgcgtgctcatccggagtgctg
cttgaagtcaagcactcgggctcgtgtaat</INSDSeq_sequence>
            </INSDSeq>
      </SequenceData>
      <SequenceData sequenceIDNumber="59">
            <INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length>1617</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..1617</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q121">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>

<INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>226..228</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q163">

<INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>n es a, c,
g o t</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>

<INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>241..246</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q164">
```

<INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>n es a, c, g o t</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>gggaactgttggctgagacaggccaagaacgggcgctgccaagtgttgtataag
accgagctgtcgaaggaggaatgctgcagcactggccggctttcaacctcctggaccgaagaagatgtcaacgataac
accctgttcaagtggatgatcttcaacggtggagcccccaactgcatcccgtgtaaagaaacttgcgaaaatgtggat
tgtggccccgggaagnnntgccggatgaacnnnnnnaacaagccgagatgcgtgtgtgcccccgactgctcgaacatc
acctggaagggacctgtgtgcggcctggacggaaagacctaccggaatgagtgcgccctgctgaaggcccggtgtaaa
gaacagcctgagttggaagtgcagtaccagggtcgctgcaagaaaacctgtcgggacgtgttctgtccgggctcctca
acttgcgtggtggaccagactaacaacgcctactgcgtgacttgcaacaggatctgcccagagccggcttcgtccgag
caatacctgtgcggaaacgacggcgtgacctactccagcgcgtgccatctccggaaggccacatgcctgctcggacgg
tccattggactggcctacgagggaaagtgcatcaaggctaagtcctgcgaagatattcagtgcaccggcggaaagaag
tgcctctgggacttcaaagtcggtagagggcgctgctctctgtgcgacgaactgtgcccagattccaagtccgacgag
cctgtctgtgcctccgacaacgcaacctacgcctccgaatgcgccatgaaggaagccgcgtgctcatccggagtgctg
cttgaagtcaagcactcgggctcgtgtaatagcatctccgaggacactgaggaggaagaggaagatgaagatcaggac
tacagctttccgatttcctcaatcttggagtgggaagtccagctgctggaatcaggcggagggcttgtgcagcctggg
ggaagccttcggttgtcatgtgccgtgtccggtatcgacctgtccaactacgcaatcaactgggttagacaggcgcca
ggaaagggactggagtggattggcatcatctgggccagcgggactacgttctatgccacctgggccaagggtcgcttc
accatctcgcgggacaactcaaagaacacggtgtacctccagatgaactccctgagagctgaggacactgccgtgtat
tactgcgcgagaaccgtacctggctactccactgccccctacttcgacctttggggacaggggaccctggtcacagtg
tccagcgcctcaaccaagggccccagcgtctttccgcttgccccgagctcgaagtcgaccagcggaggcactgcagcc
ctgggttgtctggtcaaggactacttccctgagcccgtgaccgtgtcatggaacagcggcgccctcacttcgggcgtg
cacacttttcctgcggtgctccagtcgtccgggctctactccctgtcatccgtggtcaccgtgccgtcctcgtcactc
ggaacccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagccttccaacaccaaggtcgacaagaaggtcgaacccaagtcc
tgc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="60">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1635</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..1635</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>

```
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                    <INSDQualifier id="q123">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                            </INSDFeature>
                            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>226..228</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                    <INSDQualifier id="q165">

<INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>n es a, c,
g o t</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                            </INSDFeature>
                            <INSDFeature>

<INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>241..246</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                    <INSDQualifier id="q166">

<INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                        <INSDQualifier_value>n es a, c,
g o t</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                            </INSDFeature>
                        </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>gggaactgttggctgagacaggccaagaacgggcgctgccaagtgttgtataag
accgagctgtcgaaggaggaatgctgcagcactggccggctttcaacctcctggaccgaagaagatgtcaacgataac
```

accctgttcaagtggatgatcttcaacggtggagcccccaactgcatcccgtgtaaagaaacttgcgaaaatgtggat
tgtggccccgggaagnnntgccggatgaacnnnnnnaacaagccgagatgcgtgtgtgcccccgactgctcgaacatc
acctggaagggacctgtgtgcggcctggacggaaagacctaccggaatgagtgcgccctgctgaaggcccggtgtaaa
gaacagcctgagttggaagtgcagtaccagggtcgctgcaagaaaacctgtcgggacgtgttctgtccgggctcctca
acttgcgtggtggaccagactaacaacgcctactgcgtgacttgcaacaggatctgcccagagccggcttcgtccgag
caatacctgtgcggaaacgacggcgtgacctactccagcgcgtgccatctccggaaggccacatgcctgctcggacgg
tccattggactggcctacgagggaaagtgcatcaaggctaagtcctgcgaagatattcagtgcaccggcggaaagaag
tgcctctgggacttcaaagtcggtagagggcgctgctctctgtgcgacgaactgtgcccagattccaagtccgacgag
cctgtctgtgcctccgacaacgcaacctacgcctccgaatgcgccatgaaggaagccgcgtgctcatccggagtgctg
cttgaagtcaagcactcgggctcgtgtaatagcatctccgaggacactgaggaggaagaggaagatgaagatcaggac
tacagctttccgatttcctcaatcttggagtggtccggaggaggtggaagcgaagtccagctgctggaatcaggcgga
gggcttgtgcagcctgggggaagccttcggttgtcatgtgccgtgtccggtatcgacctgtccaactacgcaatcaac
tgggttagacaggcgccaggaaagggactggagtggattggcatcatctgggccagcgggactacgttctatgccacc
tgggccaagggtcgcttcaccatctcgcgggacaactcaaagaacacggtgtacctccagatgaactccctgagagct
gaggacactgccgtgtattactgcgcgagaaccgtacctggctactccactgccccctacttcgacctttggggacag
gggaccctggtcacagtgtccagcgcctcaaccaagggccccagcgtctttccgcttgccccgagctcgaagtcgacc
agcggaggcactgcagccctgggttgtctggtcaaggactacttccctgagcccgtgaccgtgtcatggaacagcggc
gccctcacttcgggcgtgcacacttttcctgcggtgctccagtcgtccgggctctactccctgtcatccgtggtcacc
gtgccgtcctcgtcactcggaacccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagccttccaacaccaaggtcgacaag
aaggtcgaacccaagtcctgc</INSDSeq_sequence>

```
            </INSDSeq>
      </SequenceData>
      <SequenceData sequenceIDNumber="61">
            <INSDSeq>
                  <INSDSeq_length>1536</INSDSeq_length>
                  <INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
                  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                  <INSDSeq_feature-table>
                        <INSDFeature>
                              <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

      <INSDFeature_location>1..1536</INSDFeature_location>
                              <INSDFeature_quals>
                                    <INSDQualifier>

      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                    <INSDQualifier id="q125">

      <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
```

```
                                </INSDFeature_quals>
                            </INSDFeature>
                            <INSDFeature>

        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>

        <INSDFeature_location>226..228</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                        <INSDQualifier id="q167">

        <INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>n es a, c,
g o t</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                            </INSDFeature>
                            <INSDFeature>

        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>

        <INSDFeature_location>241..246</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                        <INSDQualifier id="q168">

        <INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>n es a, c,
g o t</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                            </INSDFeature>
                        </INSDSeq_feature-table>

        <INSDSeq_sequence>ggaaactgctggctgagacaggccaagaacggccgctgtcaagtgctgtacaag
accgagttgtccaaggaggaatgttgtagcaccggccggttgtccacctcctggaccgaggaggacgtgaacgataac
accctgttcaagtggatgattttcaacggcggtgccccaaattgcatcccctgcaaggagacttgcgaaaatgtggac
tgcggaccgggaaagnnntgtcggatgaacnnnnnnaacaagccgcgctgcgtgtgtgccccggactgctccaacatc
acttggaagggccccgtgtgtggactggacggaaagacctaccgcaacgagtgcgccctgctgaaggcccggtgcaag
gagcaacctgagttagaagtgcaataccagggccggtgcaaaaagacttgccgcgatgtgttctgtcccgggtccagc
acttgcgtggtggatcagaccaacaacgcctactgcgtgacgtgcaaccggatttgcccagagccggcatcttccgaa
caatacctgtgcggcaacgatggcgtgacctactcgtccgcctgccatctccggaaggccacttgtctgctggggagg
tcgattggactcgcatacgaagggaagtgcattaaggctaagtcctgcgaggacatccagtgcaccggcggaaagaag
tgcctgtgggacttcaaagtcggaaggggtcggtgttccctgtgcgacgaactgtgtcccgactccaagtcggacgaa
cctgtgtgcgcgagcgataacgctacatacgcctcggaatgcgccatgaaagaggcggcttgctcatccggcgtcctg
ctggaagtgaagcattccggaagctgcaatgaagtccagctgctggaatcaggcggagggcttgtgcagcctgggga
agccttcggttgtcatgtgccgtgtccggtatcgacctgtccaactacgcaatcaactgggttagacaggcgccagga
```

aagggactggagtggattggcatcatctgggccagcgggactacgttctatgccacctgggccaagggtcgcttcacc
atctcgcgggacaactcaaagaacacggtgtacctccagatgaactccctgagagctgaggacactgccgtgtattac
tgcgcgagaaccgtacctggctactccactgccccctacttcgacctttggggacaggggaccctggtcacagtgtcc
agcgcctcaaccaagggccccagcgtctttccgcttgccccgagctcgaagtcgaccagcggaggcactgcagccctg
ggttgtctggtcaaggactacttccctgagcccgtgaccgtgtcatggaacagcggcgccctcacttcgggcgtgcac
actttcctgcggtgctccagtcgtccgggctctactccctgtcatccgtggtcaccgtgccgtcctcgtcactcgga
acccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagccttccaacaccaaggtcgacaagaaggtcgaacccaagtcctgc
</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="62">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1554</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..1554</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q127">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>

<INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>226..228</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q137">

<INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>

```
                                                <INSDQualifier_value>n es a, c,
g o t</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                        <INSDFeature>

        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>

        <INSDFeature_location>241..246</INSDFeature_location>
                                <INSDFeature_quals>
                                        <INSDQualifier id="q138">

        <INSDQualifier_name>nota</INSDQualifier_name>
                                                <INSDQualifier_value>n es a, c,
g o t</INSDQualifier_value>
                                        </INSDQualifier>
                                </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                </INSDSeq_feature-table>

        <INSDSeq_sequence>ggaaactgctggctgagacaggccaagaacggccgctgtcaagtgctgtacaag
accgagttgtccaaggaggaatgttgtagcaccggccggttgtccacctcctggaccgaggaggacgtgaacgataac
accctgttcaagtggatgattttcaacggcggtgccccaaattgcatcccctgcaaggagacttgcgaaaatgtggac
tgcggaccgggaaagnnntgtcggatgaacnnnnnnaacaagccgcgctgcgtgtgtgccccggactgctccaacatc
acttggaagggccccgtgtgtggactggacggaaagacctaccgcaacgagtgcgccctgctgaaggcccggtgcaag
gagcaacctgagttagaagtgcaataccagggccggtgcaaaaagacttgccgcgatgtgttctgtcccgggtccagc
acttgcgtggtggatcagaccaacaacgcctactgcgtgacgtgcaaccggatttgcccagagccggcatcttccgaa
caatacctgtgcggcaacgatggcgtgacctactcgtccgcctgccatctccggaaggccacttgtctgctggggagg
tcgattggactcgcatacgaagggaagtgcattaaggctaagtcctgcgaggacatccagtgcaccggcggaaagaag
tgcctgtgggacttcaaagtcggaaggggtcggtgttccctgtgcgacgaactgtgtcccgactccaagtcggacgaa
cctgtgtgcgcgagcgataacgctacatacgcctcggaatgcgccatgaaagaggcggcttgctcatccggcgtcctg
ctggaagtgaagcattccggaagctgcaattccggaggaggtggaagcgaagtccagctgctggaatcaggcggaggg
cttgtgcagcctgggggaagccttcggttgtcatgtgccgtgtccggtatcgacctgtccaactacgcaatcaactgg
gttagacaggcgccaggaaagggactggagtggattggcatcatctgggccagcgggactacgttctatgccacctgg
gccaagggtcgcttcaccatctcgcgggacaactcaaagaacacggtgtacctccagatgaactccctgagagctgag
gacactgccgtgtattactgcgcgagaaccgtacctggctactccactgccccctacttcgacctttggggacagggg
accctggtcacagtgtccagcgcctcaaccaagggccccagcgtctttccgcttgccccgagctcgaagtcgaccagc
ggaggcactgcagccctgggttgtctggtcaaggactacttccctgagcccgtgaccgtgtcatggaacagcggcgcc
ctcacttcgggcgtgcacacttttcctgcggtgctccagtcgtccgggctctactccctgtcatccgtggtcaccgtg
ccgtcctcgtcactcggaacccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagccttccaacaccaaggtcgacaagaag
gtcgaacccaagtcctgc</INSDSeq_sequence>
                </INSDSeq>
        </SequenceData>
        <SequenceData sequenceIDNumber="63">
```

```
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1635</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..1635</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q129">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>gggaactgttggctgagacaggccaagaacggacgctgccaggtcctgtacaag
actgaattgtccaaggaagagtgctgctccaccggacggctgtcaaccagctggactgaagaggacgtgaacgacaac
accctcttcaagtggatgatcttcaacggtggcgcacctaactgtattccgtgtaaagaaacctgtgaaaacgtcgac
tgtggacccgggaagaagtgcaggatgaacaagaagaacaagccgcgctgcgtgtgtgcacctgactgctcgaacatc
acctggaagggcccagtctgtgggctggacggaaagacctaccggaacgaatgtgccctgctgaaggctcggtgcaag
gagcaaccggaactggaagtgcagtaccaggggcggtgcaagaaaacctgtcgggatgtgttttgccctggatcctcc
acttgcgtggtggaccagaccaacaacgcctactgtgtgacatgcaacaggatctgcccggagcctgcttcctcggag
cagtacctctgcggcaatgatggcgtgacctactcctccgcctgtcacttgcgcaaagccacttgcctgctgggacgc
agcatcgggctcgcctatgagggaaagtgtattaaggccaagtcctgcgaggacatccagtgcaccggcggaaagaag
tgcctctgggatttcaaagttggccggggcagatgctcgctgtgcgatgagctgtgcccggactcgaagtcggacgaa
cccgtctgtgctagcgataacgcgacctacgcatcggagtgcgccatgaaggaggccgcatgctctagcggagtgctg
ctggaggtcaagcactccggttcctgcaactccatcagcgaagataccgaagaagaagaggaagatgaggaccaggac
tattccttcccgatctcatccattctggaatggtccggaggaggtggaagcgaagtccagctgctggaatcaggcgga
gggcttgtgcagcctgggggaagccttcggttgtcatgtgccgtgtccggtatcgacctgtccaactacgcaatcaac
tgggttagacaggcgccaggaaagggactggagtggattggcatcatctgggccagcgggactacgttctatgccacc
tgggccaagggtcgcttcaccatctcgcgggacaactcaaagaacacggtgtacctccagatgaactccctgagagct
gaggacactgccgtgtattactgcgcgagaaccgtacctggctactccactgccccctacttcgacctttggggacag
gggaccctggtcacagtgtccagcgcctcaaccaagggccccagcgtctttccgcttgccccgagctcgaagtcgacc
agcggaggcactgcagccctgggttgtctggtcaaggactacttccctgagcccgtgaccgtgtcatggaacagcggc
```

gccctcacttcgggcgtgcacacttttcctgcggtgctccagtcgtccgggctctactccctgtcatccgtggtcacc
gtgccgtcctcgtcactcggaacccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagccttccaacaccaaggtcgacaag
aaggtcgaacccaagtcctgc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="64">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1617</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..1617</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q131">

<INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>gggaactgttggctgagacaggccaagaacggacgctgccaggtcctgtacaag
actgaattgtccaaggaagagtgctgctccaccggacggctgtcaaccagctggactgaagaggacgtgaacgacaac
accctcttcaagtggatgatcttcaacggtggcgcacctaactgtattccgtgtaaagaaacctgtgaaaacgtcgac
tgtggacccgggaagaagtgcaggatgaacaagaagaacaagccgcgctgcgtgtgtgcacctgactgctcgaacatc
acctggaagggcccagtctgtgggctggacggaaagacctaccggaacgaatgtgccctgctgaaggctcggtgcaag
gagcaaccggaactggaagtgcagtaccaggggcggtgcaagaaaacctgtcgggatgtgttttgccctggatcctcc
acttgcgtggtggaccagaccaacaacgcctactgtgtgacatgcaacaggatctgcccggagcctgcttcctcggag
cagtacctctgcggcaatgatggcgtgacctactcctccgcctgtcacttgcgcaaagccacttgcctgctgggacgc
agcatcgggctcgcctatgagggaaagtgtattaaggccaagtcctgcgaggacatccagtgcaccggcggaaagaag
tgcctctgggatttcaaagttggccggggcagatgctcgctgtgcgatgagctgtgcccggactcgaagtcggacgaa
cccgtctgtgctagcgataacgcgacctacgcatcggagtgcgccatgaaggaggccgcatgctctagcggagtgctg
ctggaggtcaagcactccggttcctgcaactccatcagcgaagataccgaagaagaagaggaagatgaggaccaggac
tattccttcccgatctcatccattctggaatgggaagtccagctgctggaatcaggcggagggcttgtgcagcctggg

ggaagccttcggttgtcatgtgccgtgtccggtatcgacctgtccaactacgcaatcaactgggttagacaggcgcca
ggaaagggactggagtggattggcatcatctgggccagcgggactacgttctatgccacctgggccaagggtcgcttc
accatctcgcgggacaactcaaagaacacggtgtacctccagatgaactccctgagagctgaggacactgccgtgtat
tactgcgcgagaaccgtacctggctactccactgccccctacttcgacctttggggacaggggaccctggtcacagtg
tccagcgcctcaaccaagggccccagcgtctttccgcttgccccgagctcgaagtcgaccagcggaggcactgcagcc
ctgggttgtctggtcaaggactacttccctgagcccgtgaccgtgtcatggaacagcggcgccctcacttcgggcgtg
cacacttttcctgcggtgctccagtcgtccgggctctactccctgtcatccgtggtcaccgtgccgtcctcgtcactc
ggaacccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagccttccaacaccaaggtcgacaagaaggtcgaacccaagtcc
tgc</INSDSeq_sequence>
            </INSDSeq>
      </SequenceData>
      <SequenceData sequenceIDNumber="65">
            <INSDSeq>
                  <INSDSeq_length>1554</INSDSeq_length>
                  <INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
                  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                  <INSDSeq_feature-table>
                        <INSDFeature>
                              <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

      <INSDFeature_location>1..1554</INSDFeature_location>
                              <INSDFeature_quals>
                                    <INSDQualifier>

      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                    <INSDQualifier id="q134">

      <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                              </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                  </INSDSeq_feature-table>

      <INSDSeq_sequence>gggaactgttggctgagacaggccaagaacggacgctgccaggtcctgtacaag
actgaattgtccaaggaagagtgctgctccaccggacggctgtcaaccagctggactgaagaggacgtgaacgacaac
accctcttcaagtggatgatcttcaacggtggcgcacctaactgtattccgtgtaaagaaacctgtgaaaacgtcgac
tgtggacccgggaagaagtgcaggatgaacaagaagaacaagccgcgctgcgtgtgtgcacctgactgctcgaacatc
acctggaagggcccagtctgtgggctggacggaaagacctaccggaacgaatgtgccctgctgaaggctcggtgcaag
gagcaaccggaactggaagtgcagtaccaggggcggtgcaagaaaacctgtcgggatgtgttttgccctggatcctcc
acttgcgtggtggaccagaccaacaacgcctactgtgtgacatgcaacaggatctgcccggagcctgcttcctcggag

cagtacctctgcggcaatgatggcgtgacctactcctccgcctgtcacttgcgcaaagccacttgcctgctgggacgc
agcatcgggctcgcctatgagggaaagtgtattaaggccaagtcctgcgaggacatccagtgcaccggcggaaagaag
tgcctctgggatttcaaagttggccggggcagatgctcgctgtgcgatgagctgtgcccggactcgaagtcggacgaa
cccgtctgtgctagcgataacgcgacctacgcatcggagtgcgccatgaaggaggccgcatgctctagcggagtgctg
ctggaggtcaagcactccggttcctgcaactccggaggaggtggaagcgaagtccagctgctggaatcaggcggaggg
cttgtgcagcctgggggaagccttcggttgtcatgtgccgtgtccggtatcgacctgtccaactacgcaatcaactgg
gttagacaggcgccaggaaagggactggagtggattggcatcatctgggccagcgggactacgttctatgccacctgg
gccaagggtcgcttcaccatctcgcgggacaactcaaagaacacggtgtacctccagatgaactccctgagagctgag
gacactgccgtgtattactgcgcgagaaccgtacctggctactccactgccccctacttcgacctttggggacagggg
accctggtcacagtgtccagcgcctcaaccaagggccccagcgtctttccgcttgccccgagctcgaagtcgaccagc
ggaggcactgcagccctgggttgtctggtcaaggactacttccctgagcccgtgaccgtgtcatggaacagcggcgcc
ctcacttcgggcgtgcacacttttcctgcggtgctccagtcgtccgggctctactccctgtcatccgtggtcaccgtg
ccgtcctcgtcactcggaacccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagccttccaacaccaaggtcgacaagaag
gtcgaacccaagtcctgc</INSDSeq_sequence>
            </INSDSeq>
      </SequenceData>
      <SequenceData sequenceIDNumber="66">
            <INSDSeq>
                  <INSDSeq_length>1536</INSDSeq_length>
                  <INSDSeq_moltype>ADN</INSDSeq_moltype>
                  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                  <INSDSeq_feature-table>
                        <INSDFeature>
                              <INSDFeature_key>fuente</INSDFeature_key>

      <INSDFeature_location>1..1536</INSDFeature_location>
                              <INSDFeature_quals>
                                    <INSDQualifier>

      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>otro
ADN</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                                    <INSDQualifier id="q136">

      <INSDQualifier_name>organismo</INSDQualifier_name>
                                          <INSDQualifier_value>constructo
sintético</INSDQualifier_value>
                                    </INSDQualifier>
                              </INSDFeature_quals>
                        </INSDFeature>
                  </INSDSeq_feature-table>

      <INSDSeq_sequence>gggaactgttggctgagacaggccaagaacggacgctgccaggtcctgtacaag
actgaattgtccaaggaagagtgctgctccaccggacggctgtcaaccagctggactgaagaggacgtgaacgacaac

accctcttcaagtggatgatcttcaacggtggcgcacctaactgtattccgtgtaaagaaacctgtgaaaacgtcgac
tgtggacccgggaagaagtgcaggatgaacaagaagaacaagccgcgctgcgtgtgtgcacctgactgctcgaacatc
acctggaagggcccagtctgtgggctggacggaaagacctaccggaacgaatgtgccctgctgaaggctcggtgcaag
gagcaaccggaactggaagtgcagtaccaggggcggtgcaagaaaacctgtcgggatgtgttttgccctggatcctcc
acttgcgtggtggaccagaccaacaacgcctactgtgtgacatgcaacaggatctgcccggagcctgcttcctcggag
cagtacctctgcggcaatgatggcgtgacctactcctccgcctgtcacttgcgcaaagccacttgcctgctgggacgc
agcatcgggctcgcctatgagggaaagtgtattaaggccaagtcctgcgaggacatccagtgcaccggcggaaagaag
tgcctctgggatttcaaagttggccggggcagatgctcgctgtgcgatgagctgtgcccggactcgaagtcggacgaa
cccgtctgtgctagcgataacgcgacctacgcatcggagtgcgccatgaaggaggccgcatgctctagcggagtgctg
ctggaggtcaagcactccggttcctgcaacgaagtccagctgctggaatcaggcggagggcttgtgcagcctgggggga
agccttcggttgtcatgtgccgtgtccggtatcgacctgtccaactacgcaatcaactgggttagacaggcgccagga
aagggactggagtggattggcatcatctgggccagcgggactacgttctatgccacctgggccaagggtcgcttcacc
atctcgcgggacaactcaaagaacacggtgtacctccagatgaactccctgagagctgaggacactgccgtgtattac
tgcgcgagaaccgtacctggctactccactgccccctacttcgacctttggggacaggggaccctggtcacagtgtcc
agcgcctcaaccaagggccccagcgtctttccgcttgccccgagctcgaagtcgaccagcggaggcactgcagccctg
ggttgtctggtcaaggactacttccctgagcccgtgaccgtgtcatggaacagcggcgccctcacttcgggcgtgcac
acttttcctgcggtgctccagtcgtccgggctctactccctgtcatccgtggtcaccgtgccgtcctcgtcactcgga
acccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagccttccaacaccaaggtcgacaagaaggtcgaacccaagtcctgc
</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
</ST26SequenceListing>

REIVINDICACIONES

1. Una proteína de fusión caracterizada porque comprende o consiste en

a. un resto de folistatina,

b. un resto de anticuerpo, y opcionalmente

c. un enlazador entre el resto de folistatina y el resto de anticuerpo.

2. La proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque el resto de folistatina comprende o es una proteína natural, un fragmento funcional de la misma y/o una variante funcional de la misma.

3. La proteína de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque el resto de folistatina comprende o consiste en:

a. SEQ ID NO: 1.

b. SEQ ID NO: 2

c. SEQ ID NO: 3

d. SEQ ID NO: 4

e. Cualquier proteína que comprenda residuos de aminoácidos comprendidos entre 289 y 314 residuos de cualquiera de las SEQ ID NO: 1 a 4; o

f. una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO: 1 a 4.

4. La proteína de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque el resto de anticuerpo se une a la albúmina.

5. La proteína de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque el resto de anticuerpo es un resto de anticuerpo quimérico, humanizado o humano.

6. La proteína de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque el resto de anticuerpo es:

a) un resto de unión a antígeno seleccionado de Fab, Fab', o $F(ab')_2$ o

b) un resto de unión a antígeno seleccionado de Fab, Fab', o $F(ab')_2$ y que comprende además un dominio VH3 humano capaz de unirse a la proteína A

7. La proteína de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque el resto de anticuerpo comprende o consiste en:

a. una región variable de cadena ligera que comprende al menos una CDR seleccionada de: una CDR-L1 que comprende la SEQ ID NO: 13; una CDR-L2 que comprende la SEQ ID NO: 14 y/o una CDR-L3 que comprende la SEQ ID NO: 15; y una región variable de cadena pesada que comprende al menos una CDR seleccionada de una CDR-H1 que comprende la SEQ ID NO: 16; una CDR-H2 que comprende la SEQ ID NO: 17 y/o una CDR-H3 que comprende la SEQ ID NO: 18; o

b. una región variable de cadena pesada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tiene al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad con la misma, y una región variable de cadena ligera que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tiene al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad con la misma.

8. La proteína de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque la proteína de fusión comprende un enlazador entre el resto de folistatina y el resto de anticuerpo y en donde el enlazador se selecciona del grupo que consiste en: SGGGGS (SEQ ID NO: 7), SGGGGSSGGGGS (SEQ ID NO: 19), GGGGS (SEQ ID NO: 20) y GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 21).

9. La proteína de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque:

a) el resto de anticuerpo está conectado a la porción C-terminal del resto de folistatina, o

b) si está presente un enlazador, el resto de anticuerpo está conectado a la porción C-terminal del resto de folistatina por el enlazador.

10. La proteína de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque la proteína de fusión comprende o consiste en:

(a) i. un polipéptido FST315 definido por la SEQ ID NO: 1, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con el mismo;

ii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el terminal C del polipéptido FST315; y

iii. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(b) i. un polipéptido FST288 definido por la SEQ ID NO: 2, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un

96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con el mismo;

ii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el terminal C del polipéptido FST288; y

iii. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(c) i. un polipéptido FST315HBM definido por la SEQ ID NO: 3, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con el mismo;

ii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el terminal C del polipéptido FST315HBM; y

iii. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(d) i. Un polipéptido FST288HBM definido por la SEQ ID NO: 4, o una secuencia que tenga al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con el mismo;

ii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el terminal C del polipéptido FST288HBM; y

iii. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(e) i. un polipéptido FST315 definido por la SEQ ID NO: 1, o una secuencia que tenga al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con el mismo;

ii. un enlazador definido por la SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 o SEQ ID NO: 21 conjugado con el C-terminal del polipéptido FST315;

iii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el extremo libre del enlazador; y

iv. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(f) i. un polipéptido FST288 definido por la SEQ ID NO: 2, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con el mismo;

ii. un enlazador definido por la SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 o SEQ ID NO: 21 conjugado con el C-terminal del polipéptido FST288;

iii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el extremo libre del enlazador; y

iv. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos 95 %, al menos 96 %, al

menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(g) i. una variante polipeptídica FST315 definida por la SEQ ID NO: 3 (FST315HBM) o SEQ ID NO: 22, o una secuencia que tenga al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la misma;

ii. un enlazador definido por la SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 o SEQ ID NO: 21 conjugado con el C-terminal de la variante polipeptídica FST315;

iii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el extremo libre del enlazador; y

iv. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(h) i. una variante del polipéptido FST288 definida por la SEQ ID NO: 4 (FST288HBM) o SEQ ID NO: 25, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

ii. un enlazador definido por la SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 o SEQ ID NO: 21 conjugado con el C-terminal de la variante polipeptídica FST288;

iii. una cadena pesada Fab definida por la SEQ ID NO: 5, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma, conjugada con el extremo libre del enlazador; y

iv. una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96

%, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(i) SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 24, 25, 26, 27, 32, 33, 34 o 35 o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma y una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6, o una secuencia que tenga al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la misma;

(j) SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 24, 25, 26, 27, 32, 33, 34 o 35 y una cadena ligera Fab definida por la SEQ ID NO: 6; o

(k) una variante funcional o fragmento de cualquiera de (a) a (j).

11. Un polinucleótido aislado caracterizado porque codifica las proteínas de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores.

12. Un vector de clonación o expresión caracterizado porque comprende uno o más polinucleótidos de acuerdo con la reivindicación 11.

13. Una célula huésped caracterizada porque comprende:

a. uno o más polinucleótidos de acuerdo con la reivindicación 11 o

b. uno o más vectores de expresión de acuerdo con la reivindicación 12.

14. Un proceso para la producción de una proteína de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizado porque comprende cultivar la célula

huésped de acuerdo con la reivindicación 13 en condiciones adecuadas para producir la proteína de fusión y aislar la proteína de fusión.

15. Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende la proteína de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 y uno o más portadores, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

16. La proteína de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 15 caracterizada porque es para su uso en terapia.

Buenos Aires, junio de 2023

p.p. UCB BIOPHARMA SRL

RESUMEN

La invención se refiere al campo de las proteínas de fusión y, en particular, a las proteínas de fusión que comprenden un resto de folistatina. La invención también se refiere a métodos de fabricación de dichas proteínas de fusión, junto con formulaciones farmacéuticas que comprenden dichas proteínas de fusión.