

REIVINDICACIONES

1. Una variante de progranulina que comprende una secuencia que tiene al menos 90 % de identidad con la SEQ ID NO:2 y una secuencia definida mediante $X_1X_2X_3$ en las posiciones correspondientes a los residuos 574 a 576 de la SEQ ID NO:2, donde cada uno de X_1 , X_2 y X_3 es independientemente un aminoácido y juntos no son QLL.
2. La variante de progranulina de la reivindicación 1, donde la variante de progranulina tiene
 - (a) al menos 95 % de identidad con la SEQ ID NO:2;
 - (b) al menos 98 % de identidad con la SEQ ID NO:2;
 - (c) al menos 99 % de identidad con la SEQ ID NO:2.
3. La variante de progranulina de la reivindicación 1, donde la variante de progranulina comprende
 - (a) una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad con la SEQ ID NO:2;
 - (b) una secuencia que tiene al menos 98 % de identidad con la SEQ ID NO:2;
 - (c) una secuencia que tiene al menos 99 % de identidad con la SEQ ID NO:2.
4. La variante de progranulina de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde la variante de progranulina tiene la secuencia de:

TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHC
SAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSG

NNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGCCPMPQASCCEDRVHCCP
 HGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSVMCPDARSRCPDG
 STCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDQTVCDLIQSKCLSKENATTD
 LLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIH
 5 CCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVS
 SCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGS
 EIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPH
 AVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGKDV
 GEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARG
 10 TKCLRREAPRWDAPLRDPALRX₁X₂X₃ (SEQ ID NO:3).

5. La variante de progranulina de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde

(a) X₁ es R, H, K, D, E, S, T, N, Q, L, F, Y, P o V;

(b) X₂ es H, K, D, E, S, T, N, Q, G, P, A, Y, V, I, F, L o R; y/o

(c) X₃ es L, Y o P.

15 6. La variante de progranulina de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde
 X₁X₂X₃ es X₁IL, X₁FL, X₁QL, PX₂L, QX₂L o VX₂L.

7. La variante de progranulina de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde
 X₁X₂X₃ es X₁X₂L.

20 8. La variante de progranulina de la reivindicación 7, donde X₂ es A, R, N, D, C, Q,
 E, G, H, I, K, M, F, P, S, T, W, Y o V.

9. La variante de progranulina de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde
 X₁X₂X₃ es PIL, PFL, QQL, VVL o VTL.

10. La variante de progranulina de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde

$X_1X_2X_3$ es PPL, PYL, QQL, QHL o QRL.

11. Una variante de progranulina que comprende una secuencia que tiene al menos 90 % de identidad con la SEQ ID NO:2 y una secuencia definida mediante Y_1Y_2QLL (SEQ ID NO:137) que es adyacente y C terminal a la posición correspondiente al residuo 576 de la SEQ ID NO:2, donde Y_1 es L o está ausente, e Y_2 es R o está ausente.

12. La variante de progranulina de la reivindicación 11, donde la variante de progranulina comprende la secuencia:

TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHC
SAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSG
NNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVHCCP
HGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPARTNRAVALSSSVMCPDARSRCPDG
STCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTD
LLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIH
CCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVS
SCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGS
EIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPH
AVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAPATFLARSPHVGKDV
EGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARG
TKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLY $_1$ Y $_2$ QLL (SEQ ID NO:55),

donde Y_1 es L o está ausente, e Y_2 es R o está ausente.

13. La variante de progranulina de la reivindicación 11 o 12, donde

(a) Y_1 es L y/o Y_2 es R; o

(b) Y_1 e Y_2 están ambos ausentes.

14. Un polipéptido que comprende una variante de progranulina que comprende

una secuencia que tiene al menos 90 % de identidad con la SEQ ID NO:2 y una secuencia definida mediante $X_1X_2X_3$ en la posición correspondiente a los residuos 574 a 576 de la SEQ ID NO:2, donde cada uno de X_1 , X_2 y X_3 es independientemente un aminoácido y juntos no son QLL.

5 15. El polipéptido de la reivindicación 14, donde la variante de progranulina tiene:

- (a) al menos 95 % de identidad con la SEQ ID NO:2;
- (b) al menos 98 % de identidad con la SEQ ID NO:2; y/o
- (c) al menos 99 % de identidad con la SEQ ID NO:2.

10 16. El polipéptido de las reivindicaciones 14 o 15, donde la variante de progranulina tiene la secuencia de:

15 TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHC
SAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSG
NNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGGCCPMPQASCCEDRVHCCP
HGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPDARSRCPDG
20 STCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTD
LLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIH
CCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVS
SCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGS
EIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPH
25 AVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGKDV
GEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARG
TKCLRREAPRWDAPLRDPALRX₁X₂X₃ (SEQ ID NO:3).

17. El polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 14 a 16, donde:

- (a) X_1 es R, H, K, D, E, S, T, N, Q, L, F, Y, P o V;

(b) X_2 es H, K, D, E, S, T, N, Q, G, P, A, Y, V, I, F, L o R; y/o

(c) X_3 es L, Y o P.

18.El polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 214 a 17, donde $X_1X_2X_3$ es X_1IL , X_1FL o X_1QL .

5 19.El polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 14 a 17, donde $X_1X_2X_3$ es PX_2L , QX_2L o VX_2L .

20.El polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 14 a 17, donde $X_1X_2X_3$ es X_1X_2L .

10 21.El polipéptido de la reivindicación 20, donde X_2 es A, R, N, D, C, Q, E, G, H, I, K, M, F, P, S, T, W, Y o V.

22. El polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 14 a 18, donde $X_1X_2X_3$ es PIL, PFL o QQL.

23. El polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 14 a 17 y 19, donde $X_1X_2X_3$ es VVL, VTL, PPL, PYL, QRL o QHL.

15 24.Un polipéptido que comprende una variante de progranulina que comprende una secuencia que tiene al menos 90 % de identidad con la SEQ ID NO:2 y una secuencia definida mediante Y_1Y_2QLL (SEQ ID NO:137) que es adyacente y C terminal a la posición correspondiente al residuo 576 de la SEQ ID NO:2, donde Y_1 es L o está ausente, e Y_2 es R o está ausente.

20 25.El polipéptido de la reivindicación 24, donde la variante de progranulina comprende la secuencia:

TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHC

SAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQMSG
 NNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCP
 HGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPDARSRCPDG
 STCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTD
 5 LLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIH
 CCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVS
 SCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGS
 EIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPH
 AVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAPATFLARSPHVGKDVCEC
 10 GEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARG
 TKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLY₁Y₂QLL (SEQ ID NO:55),

donde Y₁ es L o está ausente, e Y₂ es R o está ausente.

26.El polipéptido de la reivindicación 24 o 25, donde:

- (a) Y₁ es L y/o Y₂ es R; o
 15 (b) Y₁ e Y₂ están ambos ausentes.

27.El polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 14 a 26, que comprende además un polipéptido Fc que está unido a la variante de progranulina, opcionalmente

20 donde el extremo N o el extremo C del polipéptido Fc está unido a la variante de progranulina.

28.El polipéptido de la reivindicación 27, donde el polipéptido Fc está unido a la variante de progranulina a través de un enlace peptídico o enlazador polipeptídico, opcionalmente

donde el enlazador polipeptídico tiene una longitud de 1 a 50 aminoácidos.

29.El polipéptido de la reivindicación 28, donde el enlazador polipeptídico es un enlazador polipeptídico flexible, opcionalmente

donde el enlazador polipeptídico flexible es un enlazador con alto contenido de glicina, opcionalmente

5 donde el enlazador con alto contenido de glicina es G_4S (SEQ ID NO:90) o $(G_4S)_2$ (SEQ ID NO:91).

30.El polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 27 a 29, donde el polipéptido Fc comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:64-67.

10 31.El polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 27 a 29, donde el polipéptido Fc es un polipéptido Fc modificado que se une específicamente a un receptor de transferrina.

15 32.El polipéptido de la reivindicación 31, donde el polipéptido Fc comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:68-87 y 129-132.

33.El polipéptido de la reivindicación 32, donde el polipéptido Fc comprende una secuencia que se selecciona de las SEQ ID NO:70, 75, 80, 85 y 129-132.

34.Una proteína de fusión que comprende:

(a) una variante de progranulina de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13;

20 (b) un primer polipéptido Fc que está unido a la variante de progranulina de (a); y

(c) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de polipéptido Fc con el

primer polipéptido Fc.

35. La proteína de fusión de la reivindicación 34, donde el segundo polipéptido Fc está unido a una segunda variante de progranulina de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21.

5 36. La proteína de fusión de la reivindicación 34 o 35, donde el primer polipéptido Fc está unido a la variante de progranulina a través de un enlace peptídico o enlazador polipeptídico, y/o el segundo polipéptido Fc está unido a la variante de progranulina a través de un enlace peptídico o enlazador polipeptídico, opcionalmente

10 donde el enlazador polipeptídico tiene una longitud de 1 a 50 aminoácidos.

37. La proteína de fusión de la reivindicación 36, donde el enlazador polipeptídico es un enlazador polipeptídico flexible, opcionalmente

donde el enlazador polipeptídico flexible es un enlazador con alto contenido de glicina, opcionalmente

15 donde el enlazador con alto contenido de glicina es G_4S (SEQ ID NO:90) o $(G_4S)_2$ (SEQ ID NO:91).

20 38. La proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 34 a 37, donde el extremo C del primer polipéptido Fc se une al extremo N de la progranulina y/o el extremo C del segundo polipéptido Fc se une al extremo N de la variante de progranulina.

39. La proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 34 a 38, donde el primer polipéptido Fc o el segundo polipéptido Fc se une específicamente a un receptor de transferrina.

40. La proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 34 a 39, donde cada uno del primer polipéptido Fc y el segundo polipéptido Fc comprende modificaciones que promueven la heterodimerización., opcionalmente

donde:

- 5 (i) el primer polipéptido Fc comprende una sustitución T366W y el segundo polipéptido Fc comprende sustituciones T366S, L368A y Y407V, de acuerdo con la numeración EU; o
- (ii) el primer polipéptido Fc comprende sustituciones T366S, L368A y Y407V y el segundo polipéptidos Fc que comprende una sustitución T366W, de acuerdo
- 10 con la numeración EU.

41. La proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 34 a 40, donde el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc comprende independientemente modificaciones que reducen la función efectora, opcionalmente

- 15 donde las modificaciones que reducen la función efectora son sustituciones L234A y L235A, de acuerdo con la numeración EU.

42. La proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 34 a 41, donde el polipéptido Fc comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:64-67 y/o

- 20 el segundo polipéptido Fc comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:68-87 y 129-132.

43. La proteína de fusión de la reivindicación 42, donde el segundo polipéptido Fc comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:70, 75, 80, 85 y 129-132.

44. La proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 34 a 43, donde una región bisagra o una parte de esta está unida al primer polipéptido Fc y/o al segundo polipéptido Fc.

45. La proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 34 a 44, donde:

- 5 (a) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la
 secuencia de la SEQ ID NO:98 y el segundo polipéptido Fc comprende la
 secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75;
- (b) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la
 secuencia de la SEQ ID NO:98 y el segundo polipéptido Fc comprende la
10 secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:130;
- (c) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la
 secuencia de la SEQ ID NO:99 y el segundo polipéptido Fc la secuencia de
 aminoácidos de la SEQ ID NO:75;
- 15 (d) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la
 secuencia de la SEQ ID NO:99 y el segundo polipéptido Fc la secuencia de
 aminoácidos de la SEQ ID NO:130;
- (e) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la
 secuencia de la SEQ ID NO:100 y el segundo polipéptido Fc comprende la
20 secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75;
- (f) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la
 secuencia de la SEQ ID NO:100 y el segundo polipéptido Fc comprende la
 secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:130;
- 25 (g) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la

secuencia de la SEQ ID NO:101 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75;

5 (h) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:101 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:130;

(i) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:102 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75;

10 (j) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:102 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:130;

(k) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:123 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75;

15 (l) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:123 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:130;

20 (m) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:124 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75;

(n) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:124 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:130;

(o) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la

secuencia de la SEQ ID NO:125 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75;

5 (p) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:125 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:130;

(q) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:126 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75;

10 (r) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:126 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:130.

46. La proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 34 a 45, donde la proteína de fusión se produce en una célula de ovario de hámster chino (CHO), opcionalmente

15 donde la proteína de fusión se purifica sustancialmente como se describe en el Ejemplo 1.

47. La proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 34 a 46, donde

(a) más del 50 % de las variantes de progranulina en los primeros polipéptidos de las proteínas de fusión no se truncan en el extremo C;

20 (b) el valor de K_D para la unión a sortilina de la proteína de fusión es menor que alrededor de 100 nM; y/o

(c) la EC_{50} para la unión a sortilina de la proteína de fusión es menor que alrededor de 25 nM, opcionalmente

donde la EC50 se mide mediante ELISA, opcionalmente

donde el ensayo de ELISA se lleva a cabo sustancialmente como se describe en el Ejemplo 4.

48. La proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 34 a 47, donde:

- 5 (a) la EC50 para la unión a sortilina de la proteína de fusión presenta una disminución menor que 10 veces en la unión a sortilina en comparación con una proteína de fusión de referencia que comprende (i) un primer polipéptido que comprende la SEQ ID NO:2 y (ii) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de polipéptido Fc con el primer polipéptido Fc, y/o
- 10 (b) donde la EC50 para la unión a sortilina de la proteína de fusión presenta una disminución menor que 10 veces en la unión a sortilina en comparación con una proteína de fusión de referencia que comprende (i) un primer polipéptido que comprende la SEQ ID NO:108 y (ii) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de polipéptido Fc con el primer polipéptido Fc.

- 15 49. La proteína de fusión de la reivindicación 48, donde la proteína de fusión de referencia se produce en una célula HEK, opcionalmente

donde la proteína de fusión de referencia se purifica sustancialmente como se describe en el Ejemplo 1.

50. Una composición farmacéutica que comprende:

- 20 (a) la variante de progranulina de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, el polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 14 a 33 o la proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 34 a 49 y un portador farmacéuticamente aceptable, o

(b) una pluralidad de la proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 59-104 y un portador farmacéuticamente aceptable, opcionalmente

donde más que 50 % de la pluralidad de la proteína de fusión comprende un extremo C intacto en la variante progranulina de la proteína de fusión.

- 5 51. Un polinucleótido que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica la variante de progranulina de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 o el polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 14 a 33, un vector que comprende el polinucleótido o una célula hospedadora que comprende el polinucleótido o el vector.
- 10 52. La célula hospedadora de la reivindicación 51, que comprende además de un polinucleótido que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica un segundo polipéptido Fc, opcionalmente
- donde el segundo polipéptido Fc tiene una secuencia que se selecciona de cualquiera de las SEQ ID NO: 61 y 64-87.
- 15 53. Un método para producir un polipéptido, que comprende el cultivo de una célula hospedadora en condiciones en las que se expresa el polipéptido codificado por el polinucleótido de la reivindicación 51.