MOLÉCULAS TERAPÉUTICAS QUE COMPRENDEN VARIANTES DEL DOMINIO EXTRACELULAR DEL RECEPTOR DE NEUROTROFINA P75 (P75NTR)

SOLICITUDES RELACIONADAS E INCORPORACIÓN POR REFERENCIA

[0001] Esta solicitud reivindica el beneficio de la prioridad de la solicitud GB núm. 2301838.5 (presentada el 9 de febrero de 2023), la solicitud GB núm. 2301839.3 (presentada el 9 de febrero de 2023), la solicitud US núm. 18/187.377 (presentada el 21 de marzo de 2023) y la solicitud US núm. 18/187.414 (presentada el 21 de marzo de 2023).

[0002] Todos los documentos citados o referenciados en este documento ("documentos citados en este documento"), y todos los documentos citados o referenciados en los documentos citados en este documento, junto con cualquier instrucción del fabricante, descripciones, especificaciones del producto y hojas de producto para cualquier producto mencionados en este documento o en cualquier documento incorporado por referencia en este documento, se incorporan en este documento por referencia, y pueden emplearse en la práctica de la invención. Más específicamente, todos los documentos referenciados se incorporan por referencia en la misma medida que si se indicara específica e individualmente que cada documento individual se incorpora por referencia.

DECLARACIÓN DE SECUENCIA

[0003] La presente solicitud contiene un listado de secuencias, que se ha presentado electrónicamente y se incorpora mediante referencia en su totalidad. Dicha copia XML, fue creada el 01 de febrero de 2024, se denomina P44829WO1 SL.xml y tiene un tamaño de 194.555 bytes.

CAMPO DE LA INVENCIÓN

[0004] La presente invención se refiere a terapias eficaces del dolor en seres humanos y animales de compañía.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

[0005] Existe una gran necesidad de terapias para el alivio del dolor. Además, existe la necesidad de tratamientos eficaces contra el dolor con efectos secundarios mínimos.

[0006] Los tratamientos para el alivio del dolor actualmente incluyen medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID), y con varios medicamentos antiinflamatorios no esteroideos que ayudan a controlar el dolor y la inflamación asociados con la osteoartritis. La FDA ha aprobado varios NSAID. Sin embargo, existe la necesidad de más tratamientos eficaces contra el dolor con efectos secundarios mínimos.

[0007] Las neurotrofinas son una familia de proteínas que intervienen en la proliferación, el mantenimiento y la supervivencia de las neuronas. Desde que se descubrió el factor de crecimiento nervioso (NGF) en la década de 1950, se han identificado numerosos procesos biológicos en los que interviene el NGF. El NGF es fundamental para la proliferación y el mantenimiento de las neuronas y también interviene en la inflamación y el mantenimiento de las células beta pancreáticas. El NGF se une al menos a dos receptores, el receptor de tropomiosina cinasa A (TrkA) y el receptor de baja afinidad del NGF (LNGFR/p75NTR). La familia de las neurotrofinas también incluye el factor neurotrófico estructuralmente relacionado derivado del cerebro (BDNF), la neurotrofina-3 (NT-3) y la neurotrofina-4 (NT-4) (también conocida como NT-5 o NT-4/5). El BDNF y la NT-4 funcionan principalmente a través del receptor de tropomiosina cinasa B (TrkB). La NT-3 se une con gran afinidad al receptor de tropomiosina cinasa C (TrkC), pero también es capaz de señalizar a través de TrkB. Las cuatro neurotrofinas se unen con baja afinidad a p75NTR.

[0008] El NGF provoca una sensibilización periférica tanto in vitro como in vivo, como ilustra el aumento de la respuesta de las neuronas DRG a la temperatura o a la capsaicina en su

presencia. El NGF también conduce a la regulación transcripcional tras el transporte axonal retrógrado, como ilustra la inmunotinción que muestra la regulación por aumento del BDNF tras el tratamiento intratecal con NGF. Además, el NGF puede provocar la germinación de aferentes periféricos en articulaciones enfermas y tejido canceroso (Denk et al, Annual Review of Neuroscience, Vol. 40:307-325, 2017).

[0009] El NGF se expresa en niveles bajos en la edad adulta, pero las lesiones, la inflamación o la liberación de NGF provocan la activación de células inflamatorias. A su vez, estas células también producen y secretan NGF, lo que provoca efectos a corto y largo plazo. El NGF desempeña un papel bien conocido y multifuncional en el procesamiento nociceptivo, aunque las vías de señalización precisas posteriores a la activación del receptor del NGF que median en la nocicepción son complejas y no se conocen por completo. El papel del NGF en la nocicepción y la generación y/o el mantenimiento del dolor crónico ha llevado a que se convierta en un objetivo atractivo de la terapia del dolor para el tratamiento del dolor crónico (Barker et al, Journal of Pain Research, 2020:13 1223-1241).

[0010] Dosis muy bajas de anticuerpos monoclonales (mAbs) dirigidos contra el NGF pueden reducir el dolor crónico. Sin embargo, durante los ensayos clínicos en humanos, un pequeño subgrupo de pacientes tratados con mAbs dirigidos contra el NGF desarrolló una degeneración articular rápidamente progresiva debido a la interacción con el tratamiento con NSAID. Se ha demostrado que la eliminación completa del NGF provoca un deterioro de la reparación de huesos y cartílagos (Denk et al, Annual Review of Neuroscience, Vol. 40:307-325, 2017). Actualmente se están desarrollando tratamientos para su uso en perros y gatos basados en mAbs específicos de la especie que se dirigen al NGF para el tratamiento del dolor asociado a la osteoartritis (OA) (Enomoto et al, Vet Rec. 2019 Ene 5;184(1):23 y WO2019177690). Sin embargo, dados los efectos secundarios que se produjeron en los ensayos clínicos en humanos, es necesario desarrollar tratamientos alternativos dirigidos al NGF.

[0011] La cita o identificación de cualquier documento en esta solicitud no es una admisión de que dicho documento esté disponible como estado de la técnica de la presente invención.

COMPENDIO DE LA INVENCIÓN

[0012] Existe la necesidad de terapias eficaces del dolor en seres humanos y animales de compañía. La invención proporciona una terapia del dolor con efectos secundarios reducidos en comparación con las terapias de anticuerpos anti-NGF. Las proteínas de la invención se unen al NGF que se encuentra en niveles elevados en condiciones de dolor, uniéndose así al exceso de NGF para restaurar los niveles normales de NGF sin bloquear completamente la señalización del NGF. Sin desear estar limitados por la teoría, los inventores creen que esto asegura un nivel de señalización de NGF que es necesario para las funciones saludables. Además, se cree que las proteínas de fusión de la invención pueden funcionar a una dosis muy baja, pero son altamente eficaces.

[0013] Los inventores han utilizado una estrategia analgésica para reducir, pero no agotar completamente, el NGF en circulación. Para ello, se utilizó el Dominio Extracelular (ECD) del receptor de neurotrofina p75 (p75NTR), fusionado a un Fc para aumentar su semivida. El p75NTR se une al NGF, al pro-NGF y a otros factores neurotróficos derivados del cerebro (BDNF, NT3, NT4) y media en diferentes actividades celulares. Los inventores han utilizado además una estrategia de mutación guiada por la estructura para generar variantes de p75NTR con propiedades fisicoquímicas ventajosas. Se han introducido mutaciones puntuales en el dominio extracelular de p75NTR y se han utilizado para modular la afinidad de unión de p75NTR a su ligando NGF. Estas moléculas p75NTR variantes tienen características de unión alteradas en comparación con el p75NTR natural, lo que puede permitir una unión eficiente

del NGF sin eliminar completamente el NGF, lo que se ha demostrado que provoca efectos secundarios negativos como el deterioro de las articulaciones.

[0014] En un primer aspecto, la invención se refiere a un polipéptido aislado que comprende un dominio extracelular de receptor de neurotrofina p75 (p75NTR), en donde dicho dominio extracelular p75NTR comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134.

[0015] La invención también se refiere a un ácido nucleico aislado que codifica el polipéptido aislado que comprende un dominio extracelular de p75NTR, en donde dicho dominio extracelular p75NTR comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134.

[0016] La invención también se refiere a un vector que comprende un ácido nucleico descrito anteriormente.

[0017] La invención también se refiere a una célula hospedadora que comprende un ácido nucleico descrito anteriormente o un vector como se describió anteriormente.

[0018] Un aspecto de la invención se refiere a una proteínas de fusión que comprende un dominio extracelular de p75NTR, en donde dicho dominio extracelular de p75NTR comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134, y un resto de extensión de semivida.

[0019] La invención también se refiere al ácido nucleico que codifica una proteína de fusión como se ha descrito anteriormente.

[0020] La invención también se refiere a un vector que comprende un ácido nucleico que codifica una proteínas de fusión descrito anteriormente.

[0021] La invención también se refiere a una célula hospedadora que comprende un ácido nucleico que codifica una proteínas de fusión descrito anteriormente, o un vector que comprende un ácido nucleico que codifica una proteínas de fusión como se describió anteriormente.

[0022] Un aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un polipéptido aislado como se ha descrito anteriormente y en este documento o una proteína de fusión como se ha descrito anteriormente y en este documento.

[0023] Un aspecto de la invención se refiere a un método para tratar un trastorno relacionado con NGF en un sujeto que comprende administrar una proteína p75NTR aislada como se describe anteriormente y en este documento, una proteína de fusión como se describe anteriormente y en este documento, o una composición farmacéutica como se describe anteriormente y en este documento.

[0024] Un aspecto de la invención se refiere al uso de una proteína p75NTR aislada como se describió anteriormente y en este documento, una proteína de fusión como se describió anteriormente y en este documento, o una composición farmacéutica como se describió anteriormente y en este documento en el tratamiento de un trastorno relacionado con NGF en un sujeto.

[0025] Un aspecto de la invención se refiere a una proteína p75NTR aislado como se ha descrito anteriormente y en este documento, o una proteína de fusión como se ha descrito anteriormente y en este documento para usar en el
tratamiento de un trastorno relacionado con NGF en un sujeto.

[0026] Un aspecto de la invención se refiere a un método para inhibir la actividad de NGF en un sujeto que comprende administrar una proteína p75NTR aislada como se describe anteriormente y en este documento, una proteína de fusión como se describe anteriormente y en este documento, o una composición farmacéutica como se describe anteriormente y en este documento.

[0027] Un aspecto de la invención se refiere a un kit que comprende una proteína p75NTR aislada como se describió anteriormente y en este documento, una proteína de fusión como se describió anteriormente y en este documento, o una composición farmacéutica como se describió anteriormente y en este documento y opcionalmente instrucciones para el uso.
[0028] En ciertas modalidades, el p75NTR es de un ser humano. En ciertas modalidades, el p75NTR es de un primate no humano. En ciertas modalidades, el p75NTR es de un animal. En ciertas modalidades, el p75NTR es de un animal de compañía, incluidos, entre otros, un perro, un gato, un caballo, una vaca, una oveja o un camello.
[0029] En ciertas modalidades, una proteína p75NTR aislada de la invención se utiliza para tratar o inhibir la actividad de NGF en un humano. En ciertas modalidades, una proteína p75NTR aislada de la invención se utiliza para tratar o inhibir la actividad de NGF en un primate no humano. En ciertas modalidades, una proteína p75NTR aislada de la invención puede utilizarse para tratar o inhibir la actividad de NGF en un animal. En ciertas modalidades, una proteína p75NTR aislada de la invención puede utilizarse para tratar o inhibir la actividad de NGF en un animal de compañía.
[0030] Un aspecto de la invención se refiere al tratamiento de la osteoartritis utilizando una proteína p75NTR aislada. En ciertas modalidades, una proteína p75NTR aislada descrita en este documento para tratar o prevenir la osteoartritis en un humano. En ciertas modalidades, una proteína p75NTR aislada descrita en este documento se utiliza para tratar o prevenir la osteoartritis en un primate no humano. En ciertas modalidades, una proteína p75NTR aislada descrita en este documento puede utilizarse para tratar o prevenir la osteoartritis en un animal. En ciertas modalidades, una proteína p75NTR aislada descrita en este documento puede utilizarse para tratar o evitar la osteoartritis en un animal de compañía. En ciertas modalidades, el método puede comprender la ralentización o detención de la progresión de la enfermedad, la inversión de la progresión de la enfermedad, el recrecimiento del cartílago y/o el tratamiento curativo. En ciertas modalidades, el método puede determinarse por la tasa de pérdida o recrecimiento de cartílago. En ciertas modalidades, el tratamiento de osteoartritis puede comprender la ralentización o detención de la progresión de la enfermedad, la inversión de la progresión de la enfermedad, el recrecimiento del cartílago y/o el tratamiento curativo. En ciertas modalidades, el tratamiento puede determinarse por la tasa de pérdida o recrecimiento de cartílago. En ciertas modalidades, el tratamiento de osteoartritis puede comprender la ralentización o detención de la progresión de la enfermedad, la inversión de la progresión de la enfermedad, el recrecimiento del cartílago y/o el tratamiento curativo. En ciertas modalidades, el tratamiento puede determinarse por la tasa de pérdida o recrecimiento de cartílago.
[0031] En consecuencia, es un objeto de la invención no abarcar dentro de la invención cualquier producto previamente conocido, proceso de fabricar el producto, o método de usar el producto de tal forma que los Solicitantes se reservan el derecho y por la presente divulgan una renuncia de responsabilidad sobre cualquier producto, proceso o método previamente conocido. Asimismo, se hace constar que la invención no pretende abarcar dentro de su alcance ningún producto, proceso o fabricación del producto o método de utilización del producto que no cumpla los requisitos de descripción escrita y habilitación de la USPTO (35 U.S.C. §112, primer párrafo) o de la EPO (Artículo 83 del EPC), de manera que los Solicitantes se reservan el derecho y por la presente divulgan una renuncia de responsabilidad sobre cualquier producto, proceso de fabricación del producto o método de utilización del producto descritos previamente. Puede ser ventajoso en la práctica de la invención cumplir con el Art. 53(c) EPC y la Regla 28(b) y (c) EPC. Se reservan explícitamente todos los derechos a renunciar explícitamente a cualquier modalidad que sea objeto de cualquier patente concedida

al solicitante en el linaje de esta solicitud o en cualquier otro linaje o en cualquier solicitud presentada anteriormente por terceros. Nada de lo expuesto en este documento debe interpretarse como una promesa.

[0032] Se hace constar que en esta divulgación y, en particular, en las reivindicaciones y/o párrafos, términos como "comprende", "comprendido", "que comprende" y similares pueden tener el significado que se les atribuye en la legislación sobre patentes de EE. UU.; por ejemplo, pueden significar "incluye", "incluido", "que incluye" y similares; y que términos como "que consiste esencialmente en" y "consiste esencialmente en" tienen el significado que se les atribuye en la legislación sobre patentes de EE. UU., por ejemplo, permiten elementos no explícitamente indicados, pero excluyen elementos que se encuentran en el estado de la técnica o que afectan a una característica básica o novedosa de la invención.

[0033] Estas y otras modalidades se divulgan o resultan evidentes y están comprendidas en la siguiente Descripción Detallada.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0034] La invención se describe en las siguientes figuras no taxativas.

[0035] Figura 1. Alineación de secuencias de dominios extracelulares p75NTR humanos (SEQ ID NO:73), caninos (SEQ ID NO:7), felinos (SEQ ID NO:38), equinos (SEQ ID NO:5), camélidos (SEQ ID NO:101), bovinos (SEQ ID NO:36) y porcinos (SEQ ID NO:110). Se muestran los aminoácidos 1-160. No se representan la región peduncular ni los sitios de escisión de la alfa y gamma secretasa. Alineación de secuencias realizada con EXPASY Clustal Omega. Los residuos mutados según la invención se indican con recuadros.

[0036] Figura 2. Modelo 3D de p75NTR-ECD canino (mostrado como dibujo con superficie transparente) en complejo con NGF canino (mostrado como dibujo) basado y generado mediante modelado de homología con pdb 1SG1 humano. En el círculo se muestran los residuos de p75NTR-ECD importantes para la unión al NGF.

[0037] Figura 3. Afinidad de unión de las variantes de p75NTR. Cada panel representa un sensograma SPR representativo (que muestra los datos brutos como puntos y los datos ajustados utilizando el ajuste de Langmuir 1:1 como líneas) que incluye 5 concentraciones diferentes de PetML119wt, variantes y Bedinvetmab. La Tabla 1 muestra los valores cinéticos obtenidos del ajuste.

[0038] Figura 4. Análisis de la estabilidad térmica de las variantes de p75NTR. Las medidas de fluorescencia intrínseca obtenidas de cada molécula se muestran en el gráfico. La Tm calculada para estas moléculas se proporciona en una tabla resumen en la Figura 4.

[0039] Figura 5. Ensayo de proliferación celular de TF-1. En el eje Y se muestran los valores medios de intensidad de fluorescencia normalizados con respecto a los controles, mientras que en el eje X se muestran las concentraciones de PetML119wt, variantes o Bedinvetmab utilizadas. Se muestran las curvas ajustadas utilizando una función sigmoidal, así como los valores IC50 e ICMAX derivados para cada molécula ensayada.

[0040] Figura 6. Ensayo de activación de TrkA. En el eje Y se muestran los valores de luminiscencia AU normalizados con respecto a los controles, mientras que en el eje X se muestran las concentraciones de PetML119wt, variantes o Bedinvetmab utilizadas. Se muestran las curvas ajustadas utilizando una función sigmoidal, así como los valores IC50 e ICMAX derivados para cada molécula ensayada.

[0041] Figura 7. Esquema del estudio *in vivo*.

[0042] Figura 8. Determinación de la afinidad de unión del factor de crecimiento nervioso humano y de rata (h-rNGF). Cada panel representa un sensograma SPR representativo (que muestra los datos brutos como puntos y los datos ajustados utilizando el ajuste de Langmuir 1:1 como líneas) que incluye 5 concentraciones diferentes de PetML308, PetML309 y

PetML319. Las Tablas 6 y 7 muestran los valores cinéticos obtenidos del ajuste.

[0043] Figura 9. Desnaturalización térmica por UnCle. Las medidas de fluorescencia intrínseca obtenidas de cada molécula se muestran en el gráfico para cada molécula ensayada. Tabla
8 muestra las temperaturas de fusión de cada molécula.

[0044] Figura 10. Ensayo de activación de TrkA. En el eje Y se muestran los valores de luminiscencia AU normalizados con respecto a los controles, mientras que en el eje X se muestran las concentraciones de PetML308, PetML309 y PetML319 utilizadas. Curvas ajustadas utilizando una función sigmoidal, así como los valores IC50 e ICMAX derivados para cada molécula ensayada.

[0045] Figura 11. Efectos analgésicos *in vivo*. Análisis dinámico de carga de peso en ratas utilizando un modelo de osteoartritis con yodoacetato monosódico (MIA). **Figura 11A** Día 3. **Figura 11B** Día 6. **Figura 11C** Día 14. **Figura 11D** Día 21.

[0046] Figura 12. Análisis pK de ratas utilizando un modelo de osteoartritis MIA. **Figura 12A**. p75-Fc pK en plasma. **Figura 12B**. NGF en plasma.

[0047] Figura 13. Medidas de diámetro de articulaciones utilizando un modelo de osteoartritis MIA.

[0048] Figura 14. Investigación antiinflamatoria de las moléculas p75NTR-Fc en la línea celular DH82.

[0049] Figura 15. Fármaco modificador de la enfermedad osteoartrítica (DMOAD) en ratas.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

[0050] A continuación se describe con más detalle la presente invención. En los siguientes pasajes, se definen con más detalle diferentes aspectos de la invención. Cada aspecto así definido puede combinarse con cualquier otro aspecto o aspectos a menos que se indique claramente lo contrario. En particular, cualquier característica indicada como preferida o ventajosa puede combinarse con cualquier otra característica o características indicadas como preferidas o ventajosas.

[0051] En general, las nomenclaturas utilizadas en relación con y las técnicas de cultivo celular y tisular, patología, oncología, biología molecular, inmunología, microbiología, genética y química e hibridación de proteínas y ácidos nucleicos descritas en este documento son las conocidas y comúnmente utilizadas en la técnica. Los métodos y técnicas de la presente descripción se realizan generalmente de acuerdo con los métodos convencionales bien conocidos en la técnica y como se describe en varias referencias generales y más específicas que se citan y discuten a lo largo de la presente memoria descriptiva a menos que se indique lo contrario. Ver, por ejemplo, Green y Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4° ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2012); Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic, Zhiqiang An (Editor), Wiley, (2009); y Antibody Engineering, 2.° Ed., Vol. 1 y 2, Ontermann y Duebel, eds., Springer- Verlag, Heidelberg (2010).

[0052] Las reacciones enzimáticas y las técnicas de purificación se realizan de acuerdo con las especificaciones del fabricante, como se logra comúnmente en la técnica o como se describe en este documento. Las nomenclaturas utilizadas en relación con y los procedimientos y técnicas de laboratorio de química analítica, química orgánica sintética y química médica y farmacéutica descritos en este documento son los conocidos y comúnmente utilizados en la técnica. Se utilizan técnicas estándar para la síntesis química, los análisis químicos, la preparación farmacéutica, la formulación y la administración, y el tratamiento de los pacientes.

[0053] La invención proporciona terapias biológicas para uso humano y veterinario, incluidas

proteínas de fusión p75NTR para usar en el tratamiento de animales humanos o de compañía, como perros, gatos, bovinos, caballos, cerdos o camellos.

Variantes de p75NTR

[0054] En un primer aspecto, la invención se refiere a un polipéptido aislado que comprende un receptor de neurotrofina p75 (p75NTR), que comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134 en dicho p75NTR.

[0055] Como se usa en este documento, el término proteína p75NTR se refiere a una proteína p75NTR que se une a NGF, pro-NGF y/u otras neurotrofinas (BDNF, NT-3 y/o NT-4/5). Como se usa en este documento, esto significa que la proteína p75NTR es capaz de unirse al NGF e inhibir la actividad biológica del NGF y/o la o las vías descendentes mediadas por la señalización del NGF. Una proteína de unión al NGF reduce la actividad biológica del NGF, incluidas las vías descendentes mediadas por la señalización del NGF y/o reduce la cantidad de NGF que está en circulación, y que puede unirse a sus receptores trkA y NGFR (p75NTR). En ciertas modalidades, el término proteína p75NTR se refiere a una proteína p75NTR que se une al pro-NGF, es decir, a la molécula precursora del NGF. Como se usa en este documento, esto significa que la proteína p75NTR es capaz de unirse al pro-NGF e inhibir la actividad biológica del pro-NGF y/o la o las vías descendentes mediadas por la señalización del NGF. Una proteína de unión a pro-NGF reduce la actividad biológica del NGF, incluidas las vías descendentes mediadas por la señalización del NGF y/o reduce la cantidad de NGF que está en circulación, y que puede unirse a sus receptores trkA y NGFR (p75NTR). La proteína p75NTR de la presente invención puede unirse al pro-NGF y/o al NGF. La proteína p75NTR de la presente invención puede demostrar unión preferencial hacia NGF o pro-NGF. El NGF promueve la supervivencia y diferenciación de las neuronas. El NGF se sintetiza inicialmente como un precursor, el proNGF, que es la forma predominante en el sistema nervioso central. El NGF y el proNGF se unen a TrkA/p75NTR para mediar en la supervivencia celular y a sortilina/p75NTR para promover la apoptosis.

[0056] El término animal de compañía, como se usa en este documento, se refiere a un perro, un gato o un caballo. En una modalidad, el animal de compañía es un perro. En una modalidad, el animal de compañía es un gato. En otra modalidad, el animal a tratar puede ser una vaca o un cerdo. En otra modalidad, el animal a tratar puede ser un camello.

[0057] El término molécula, proteína o polipéptido "aislado" se refiere a una molécula, proteína o polipéptido que está sustancialmente libre de otras proteínas o polipéptidos, que tienen diferentes especificidades antigénicas. Además, la proteína o el polipéptido pueden estar sustancialmente libres de otro material celular y/o sustancias químicas. Así, la proteína, los ácidos nucleicos y los polipéptidos descritos en este documento están preferiblemente aislados. Por lo tanto, como se utiliza en este documento, una proteína o polipéptido "aislado" significa una proteína o polipéptido que se ha identificado y separado y/o recuperado de un componente de su entorno natural de cultivo celular. Los componentes contaminantes de su entorno natural son materiales que interferirían con los usos diagnósticos o terapéuticos de la proteína o polipéptido y pueden incluir enzimas, hormonas y otros solutos proteináceos o no proteináceos.

[0058] Los términos "polipéptido" y "proteína" se utilizan indistintamente para referirse a un polímero de residuos de aminoácidos y no están limitados a una longitud mínima. También se incluyen en esta definición los péptidos, oligopéptidos, dímeros, multímeros y similares, compuestos de aminoácidos dispuestos linealmente y unidos por enlaces peptídicos, producidos biológica, recombinante o sintéticamente, y compuestos de aminoácidos naturales o no naturales. La definición abarca tanto las proteínas completas como sus fragmentos. Los términos también incluyen modificaciones cotraduccionales y postraduccionales del

polipéptido, como, por ejemplo, formación de enlaces disulfuro, glicosilación, acetilación, fosforilación, escisión proteolítica (por ejemplo, escisión por furinas o metaloproteasas y prohormona convertasas (PC)), y similares. Además, a efectos de la presente invención, un "polipéptido" engloba una proteína que incluye modificaciones, como eliminaciones, adiciones, sustituciones y modificaciones postraduccionales (generalmente de naturaleza conservadora como sería conocido por un experto en la técnica), a la secuencia nativa, siempre que la proteína mantenga la actividad deseada. Estas modificaciones pueden ser deliberadas, por ejemplo, mediante mutagénesis dirigida al sitio, o accidentales, por ejemplo mediante mutaciones de los hospedadores que producen las proteínas, o errores debidos a la amplificación por PCR u otros métodos de ADN recombinante. Los polipéptidos o proteínas se componen de aminoácidos dispuestos linealmente y unidos por enlaces peptídicos, pero a diferencia de los péptidos, tienen una conformación bien definida.

[0059] Las proteínas, a diferencia de los péptidos, suelen estar formadas por cadenas de 50 o más aminoácidos. Para los fines de la presente invención, el término "péptido", como se utiliza en este documento, se refiere típicamente a una secuencia de aminoácidos formada por una sola cadena de aminoácidos D o L o una mezcla de aminoácidos D y L unidos por enlaces peptídicos. Generalmente, los péptidos contienen al menos dos residuos de aminoácidos y tienen una longitud inferior a aproximadamente 50 aminoácidos.

[0060] La presente invención se refiere a moléculas que comprenden una variante de un dominio extracelular de p75NTR. La variante p75NTR puede ser, entre otras, una variante p75NTR humana, una variante p75NTR canina, una variante p75NTR felina, una variante p75TR equina, o una variante p75NTR bovina, o una variante p75NTR camélida. Las proteínas p75NTR canina, felina, bovina, equina y camélida presentan un grado muy elevado de similitud de secuencia, como se muestra en la Figura 1. La variante del dominio extracelular de p75NTR comprende un aminoácido diferente en una o más posiciones de la cadena polipeptídica en comparación con el p75NTR de tipo natural. El aminoácido variante puede estar presente en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134 del dominio extracelular de p75NTR. Las posiciones 75, 109, 133 y 134 están resaltadas en la Figura 1. La numeración de las posiciones se basa en la secuencia de aminoácidos del p75NTR canino, felino, equino, bovino y humano tal como se establece en las SEQ ID No 1, 3, 5, 36 y 71 respectivamente. La numeración de posiciones se basa en la secuencia de aminoácidos del p75NTR ECD humana p75NTR ECD humana (SEQ ID NO:73), p75NTR ECD canina (SEQ ID NO:7), p75NTR ECD felina (SEQ ID NO:38), p75NTR ECD equina (SEQ ID NO:5), p75NTR ECD camélida (SEQ ID NO:101), p75NTR ECD bovina (SEQ ID NO:36), y p75NTR ECD porcina (SEQ ID NO:110), véase la Figura 1.

[0061] El término "aminoácido variante" utilizado en este documento hace referencia a cualquier aminoácido que no sea el aminoácido presente en la secuencia de aminoácidos de tipo natural, en este caso la secuencia de p75NTR de tipo natural. La secuencia de tipo natural puede ser una secuencia p75NTR de mamífero de tipo natural. La secuencia de tipo natural puede ser una secuencia p75NTR humana de tipo natural. La secuencia de tipo natural puede ser la secuencia p75NTR canina de tipo natural, la secuencia p75NTR felina de tipo natural, la secuencia p75NTR equina de tipo natural, la secuencia p75NTR bovina de tipo natural o la secuencia camélida de tipo natural, que se divulgan en este documento. Las secuencias p75NTR canina, felina, equina, bovina y humana de tipo natural se muestran en la Figura 1 y en las SEQ ID No. 1, 3, 5, 36 y 71. Cuando se hace referencia a la secuencia p75NTR de tipo natural, se puede referir a toda la secuencia o a parte de ella, por ejemplo el dominio extracelular.

[0062] El aminoácido variante puede ser el resultado de la sustitución, el reemplazo o la

modificación del aminoácido original (por ejemplo, de tipo natural o de línea germinal), dentro de una secuencia de proteínas, por un aminoácido diferente. El proceso de sustitución o reemplazo de un aminoácido se puede hacer utilizando técnicas estándar disponibles para el experto, por ejemplo, utilizando tecnología de ADN recombinante. La modificación de un aminoácido puede realizarse postraduccionalmente y pueden utilizarse diversos métodos químicos o de bioconjugación para modificar dicho aminoácido. Los aminoácidos se modifican en relación con la secuencia nativa (tipo natural/línea germinal) tal y como se encuentra en la naturaleza en el tipo natural (WT). Por "tipo natural" o "WT" o "natural" en este documento se entiende una secuencia de aminoácidos o una secuencia de nucleótidos que se encuentra en la naturaleza, incluidas las variaciones alélicas. Una proteína o polipéptido de tipo natural tiene una secuencia de aminoácidos o una secuencia de nucleótidos que no ha sido modificada intencionadamente.

[0063] El término "aminoácido", tal como se utiliza en este documento, se refiere a uno de los 20 aminoácidos naturales (canónicos) o a cualquier análogo no natural (aminoácidos no canónicos) que pueda estar presente en una posición específica y definida dentro de una secuencia de péptidos. “Aminoácido” abarca tanto los aminoácidos de origen natural como los sintéticos. Aunque en la mayoría de los casos, cuando la proteína se va a producir de forma recombinante, solo se utilizan aminoácidos de origen natural. El aminoácido variante puede comprender uno de los veinte aminoácidos canónicos. El aminoácido variante puede comprender un aminoácido no canónico, también conocidos como aminoácidos no naturales, por ejemplo hidroxiprolina, hidroxilisina, fosfoserina, fosfotreonina, fosfotirosina, N-acetil lisina, metil lisina.

[0064] El aminoácido variante en la posición 75 puede ser un aminoácido seleccionado de alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina. El aminoácido variante en la posición 109 puede seleccionarse de alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, treonina, triptófano, tirosina, valina. El aminoácido variante en la posición 133 puede seleccionarse de alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina. El aminoácido variante en la posición 134 puede seleccionarse de alanina, arginina, asparagina, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina.

[0065] El aminoácido variante en la posición 75 puede ser un aminoácido que comprende una cadena lateral polar. Por ejemplo, el aminoácido variante en la posición 75 puede seleccionarse de serina, treonina, tirosina, triptófano, asparagina, glutamina o cisteína. Preferiblemente, el aminoácido variante en la posición 75 comprende una cadena lateral polar pequeña, por ejemplo, serina o treonina. En una modalidad, el aminoácido variante en la posición 75 es treonina.

[0066] El aminoácido variante en la posición 109 puede ser un aminoácido que comprende una cadena lateral aromática. Por ejemplo, el aminoácido variante en la posición 109 puede seleccionarse de histidina, tirosina, fenilalanina o triptófano. En una modalidad, el aminoácido variante en la posición 109 es histidina. En una modalidad, el aminoácido variante en la posición 109 es tirosina.

[0067] El aminoácido variante en la posición 133 puede ser un aminoácido que comprende una cadena lateral cargada. Por ejemplo, el aminoácido variante en la posición 133 puede seleccionarse de arginina, histidina, lisina, ácido aspártico o ácido glutámico. En una

modalidad, el aminoácido variante en la posición 133 puede ser un aminoácido que comprende una cadena lateral cargada negativamente. Por ejemplo, el aminoácido variante en la posición 133 puede seleccionarse de arginina, histidina o lisina. En una modalidad, el aminoácido variante en la posición 133 es arginina.

[0068] El aminoácido variante en la posición 134 puede ser un aminoácido que comprende una cadena lateral hidrofóbica. Por ejemplo, el aminoácido variante en la posición 134 puede seleccionarse de alanina, valina, isoleucina, metionina, fenilalanina, tirosina o triptófano. En una modalidad, el aminoácido variante en la posición 134 puede ser un aminoácido que comprende una cadena lateral hidrofóbica no aromática. Por ejemplo, el aminoácido variante en la posición 134 puede seleccionarse de alanina, valina, isoleucina, leucina o metionina. En una modalidad, el aminoácido variante en la posición 134 es leucina o isoleucina. En una modalidad, el aminoácido variante es leucina.

[0069] Las modificaciones de aminoácidos en general se refieren e incluyen sustituciones, inserciones y eliminaciones, prefiriéndose las primeras en muchos casos. El dominio extracelular variante de p75NTR de la invención descrito en este documento, que comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134, puede comprender aminoácidos variantes adicionales dentro de la secuencia polipeptídica. Estos aminoácidos variantes adicionales pueden incluir cualquier número de modificaciones adicionales, siempre que la función de la proteína siga presente, como se describe en este documento. Será evidente para el experto en la técnica que las mutaciones adicionales pueden producirse de forma natural dentro de la secuencia de aminoácidos o que las mutaciones adicionales pueden modificarse genéticamente, por ejemplo, para aumentar la estabilidad o reducir la glicosilación. En una modalidad, generalmente se utilizan 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 modificaciones, ya que a menudo el objetivo es alterar la función con un número mínimo de modificaciones. Una secuencia polipeptídica variante poseerá preferiblemente al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, o al menos aproximadamente 99% de identidad con las secuencias de tipo natural o las secuencias originales. Cabe señalar que, dependiendo del tamaño de la secuencia, el porcentaje de identidad dependerá del número de aminoácidos.

[0070] Por “proteína variante” o “variante de proteína” en este documento se entiende una proteína que difiere de la de una proteína de tipo natural en virtud de al menos una modificación de aminoácidos. El polipéptido aislado según la invención comprende un dominio extracelular del receptor de neurotrofina p75 (p75NTR), que comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134 dentro de dicho p75NTR, sin embargo, el experto entendería que pueden estar presentes más aminoácidos variantes dentro de dicho p75NTR en comparación con el p75NTR de tipo natural. Las posiciones a las que se hace referencia en este documento se refieren al dominio extracelular de p75NTR. El polipéptido original puede ser un polipéptido natural o de tipo natural (WT), puede ser una versión modificada de un polipéptido WT. El polipéptido variante puede referirse al propio polipéptido, a una composición que comprende el polipéptido, o a la secuencia amino que lo codifica. Preferiblemente, el polipéptido variante tiene al menos una modificación de aminoácidos en comparación con el polipéptido original, por ejemplo, de aproximadamente una a aproximadamente diez modificaciones de aminoácidos, y preferiblemente de aproximadamente una a aproximadamente cinco modificaciones de aminoácidos en comparación con el original. La secuencia polipeptídica variante de este documento poseerá preferiblemente al menos aproximadamente 80% de identidad con una secuencia

polipeptídica original, y más preferiblemente al menos aproximadamente 90% de identidad, y más preferiblemente al menos aproximadamente 95% de identidad. Las variantes no incluyen secuencias humanas.

[0071] Por “polipéptido original”, “proteína original” como se utiliza en este documento se entiende un polipéptido no modificado que se modifica posteriormente para generar una variante. Dicho polipéptido original puede ser un polipéptido natural o una variante o versión diseñada de un polipéptido de origen natural. El polipéptido original puede referirse al propio polipéptido, a composiciones que comprenden el polipéptido original, o a la secuencia de aminoácidos que lo codifica.

[0072] El receptor de neurotrofina p75 p75NTR en su forma nativa existe como una glicoproteína transmembrana. Los miembros de la familia se caracterizan por múltiples dominios ricos en cisteína para la unión del ligando, un único dominio extracelular (ECD) de secuencia transmembrana, y un dominio citoplásmico no catalítico. Como se utiliza en este documento, una porción de p75NTR o una porción del ECD de p75NTR incluye al menos un dominio de unión a neurotrofina.

[0073] El ECD soluble endógeno de p75NTR se produce por proteólisis regulada por α-secretasa y γ-secretasa que escinde la proteína cerca de la unión de membrana del ECD. Esta escisión da lugar a la liberación del dominio citoplasmático que queda libre para unirse al NGF como antagonista natural de la señalización del NGF.

[0074] En una modalidad, el dominio extracelular de p75NTR según la invención comprende el dominio extracelular (ECD) de longitud completa o parte de este. Una parte del ECD de p75NTR puede comprender varios truncamientos del ECD de longitud completa. Los truncamientos del ECD de p75NTR pueden producirse mediante técnicas conocidas en la técnica, como las técnicas de ADN recombinante. En una modalidad, el dominio extracelular de p75NTR comprende o consiste en el ECD de longitud completa. En una modalidad, el dominio extracelular de p75NTR comprende el dominio extracelular (ECD) y aminoácidos del extremo C adicionales de la proteína p75NTR adyacentes al ECD. Por ejemplo, la porción de la proteína p75NTR puede comprender el ECD y al menos 1-5 o 5-10 aminoácidos, por ejemplo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos C-terminales de la proteína p75NTR adyacentes al ECD; o el ECD y al menos 10-20 aminoácidos, o el ECD y al menos 20-30 aminoácidos, o el ECD y al menos 30-40 aminoácidos, o el ECD y al menos 40-50 aminoácidos, o el ECD y al menos 50-60 aminoácidos, o el ECD y al menos 60-70 aminoácidos, o el ECD y al menos 70-80 aminoácidos, o el ECD y al menos 80-90 aminoácidos, o el ECD y al menos 90-100 aminoácidos, o el ECD y al menos 100-110 aminoácidos, o el ECD y al menos 110-120 aminoácidos, o el ECD y al menos 120-130 aminoácidos, o el ECD y al menos 130-140 aminoácidos, o el ECD y al menos 140-150 aminoácidos, o el ECD y al menos 150-160 aminoácidos, o el ECD y al menos 160-170 aminoácidos o el ECD y al menos 170-180 aminoácidos del extremo C de la proteína p75NTR del animal de compañía adyacentes al ECD.

[0075] En una modalidad, se eliminan los sitios de escisión de α-secretasa y γ-secretasa dentro del ECD. En una modalidad, se elimina toda o parte de la región peduncular. Como se utiliza en este documento, la región peduncular se refiere a los aminoácidos descendentes de la secuencia EEIP conservada en las posiciones 161-164. En una modalidad, se eliminan los sitios de escisión de α-secretasa y γ-secretasa de la región peduncular dentro del ECD. En una modalidad, se elimina una porción del extremo N de la proteína p75NTR madura, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 o más aminoácidos en el extremo N. En una modalidad, se elimina una parte de los aminoácidos directamente aguas arriba de la región peduncular, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más aminoácidos contiguos.

[0076] En una modalidad, el dominio extracelular p75NTR es canino y comprende o consiste en SEQ ID NO:7 o una variante de este o una porción de este. Las variantes según la invención comprenden un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134, por ejemplo SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:55 o SEQ ID NO:58. En una modalidad, el polipéptido aislado que comprende un dominio extracelular del receptor de la neurotrofina p75 (p75NTR) del animal de compañía, en donde dicho p75NTR comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134 comprende o consiste en la SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:55 o SEQ ID NO:58.
[0077] En otra modalidad, el dominio extracelular p75NTR aislado del animal de compañía es felino y comprende o consiste en SEQ ID NO:38 o una variante de este o una porción de este. Las variantes según la invención comprenden un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134, por ejemplo SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:67 o SEQ ID NO:69. En una modalidad, el polipéptido aislado que comprende un dominio extracelular del receptor de la neurotrofina p75 (p75NTR) del animal de compañía, en donde dicho p75NTR comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134 comprende o consiste en la SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:67 o SEQ ID NO:69.
[0078] En otra modalidad, el dominio extracelular p75NTR aislado es humano y comprende o consiste en SEQ ID NO:71 o una variante de este o una porción de este. Las variantes según la invención comprenden un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134, por ejemplo SEQ ID NO:84, SEQ ID NO:87, SEQ ID NO:90, SEQ ID NO:93 o SEQ ID NO:96. En una modalidad, el polipéptido aislado que comprende un dominio extracelular del receptor de la neurotrofina p75 (p75NTR) humano, en donde dicho p75NTR comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134 comprende o consiste en la SEQ ID NO:84, SEQ ID NO:87, SEQ ID NO:90, SEQ ID NO:93 o SEQ ID NO:96.
[0079] En otra modalidad, el dominio extracelular p75NTR aislado es bovino y comprende o consiste en SEQ ID NO: 36, o una variante de este o una porción de este. Las variantes según la invención comprenden un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134, por ejemplo SEQ ID NO:127, SEQ ID NO:128, SEQ ID NO:129, SEQ ID NO:130, SEQ ID NO:131.
[0080] En otra modalidad, el dominio extracelular p75NTR aislado es camélido y comprende o consiste en SEQ ID NO: 99, o una variante de este o una porción de este Las variantes según la invención comprenden un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134, por ejemplo SEQ ID NO:103, SEQ ID NO:104, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:106, SEQ ID NO:107.
[0081] En otra modalidad, el dominio extracelular p75NTR aislado es porcino y comprende o consiste en SEQ ID NO: 108, o una variante de este o una porción de este Las variantes según la invención comprenden un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134, por ejemplo SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO:113, SEQ ID NO:114, SEQ ID NO:115, SEQ ID NO: 116.
[0082] En otra modalidad, el dominio extracelular p75NTR aislado es equino y comprende o consiste en SEQ ID NO: 5, o una variante de este o una porción de este Las variantes según la invención comprenden un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134, por ejemplo SEQ ID NO:120, SEQ ID NO:121, SEQ ID NO:122, SEQ ID NO:123, SEQ ID NO:124.
[0083] El ECD de p75NTR tiene una región peduncular (por ejemplo, SEQ ID NO:9, región peduncular canina) que es propensa a la O-glicosilación. La glicosilación en proteínas puede causar dificultades de fabricación. Por lo tanto, en una modalidad, el ECD aislado puede

comprender eliminaciones en la región peduncular para reducir el número de sitios de O-glicosilación dentro de la región peduncular, por ejemplo, para formar una región peduncular truncada. Una región peduncular truncada puede comprender cualquier número de aminoácidos de la región peduncular. Por ejemplo, la región peduncular puede comprender 1-10, 1-20, 1-30 aminoácidos. La región peduncular puede eliminarse en las modalidades descritas en este documento. Pueden introducirse mutaciones puntuales en la región peduncular para producir una región peduncular con un número reducido de sitios de o-glicosilación. Por ejemplo, pueden utilizarse mutaciones puntuales para introducir aminoácidos variantes en los sitios de o-glicosilación para evitar que se produzca la glicosilación en estos sitios. Así, una porción del ECD como se utiliza en este documento puede ser el ECD sin los sitios de escisión de la región peduncular y las secuencias 3' α-secretasa y γ-secretasa (por ejemplo, SEQ ID NO:34).

[0084] Así, en una modalidad, el ECD del p75NTR es una proteína truncada a la que se le ha eliminado la región peduncular de O-glicosilación.

[0085] La moléculas p75NTR descritas en este documento pueden unirse al pro-NGF y/o al NGF. El pro-NGF y el NGF tienen diferentes actividades in vivo, mostrando el pro-NGF efectos proinflamatorios, catabólicos y apoptóticos y el NGF efectos antiinflamatorios, anabólicos y proliferativos. En una modalidad, el polipéptido aislado que comprende un p75NTR ECD en donde dicho p75NTR comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134, es capaz de unirse al NGF e inhibir la actividad biológica del NGF y/o la o las vías descendentes mediadas por la señalización del NGF. El polipéptido aislado que comprende un p75NTR ECD puede ser capaz de unirse al pro-NGF e inhibir la actividad biológica del pro-NGF y/o la o las vías descendentes mediadas por la señalización del pro-NGF. El polipéptido aislado que comprende un p75NTR ECD puede unirse e inhibir preferentemente el NGF sobre el pro-NGF. El polipéptido aislado que comprende un p75NTR ECD puede unirse e inhibir preferentemente el pro-NGF sobre el NGF. En ciertas modalidades, por ejemplo, cuando se desea un efecto antiinflamatorio, puede ser ventajoso tener una molécula de p75NTR que se une preferentemente al pro-NGF sobre el NGF.

[0086] El polipéptido aislado que comprende un p75NTR ECD en donde dicho p75NTR comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134 tiene una afinidad de unión alterada por su diana en comparación con el p75NTR ECD de tipo natural. El p75NTR ECD de la invención puede tener una afinidad de unión alterada por uno o más NGF, pro-NGF BDNF, NT3, NT4 en comparación con el p75NTR ECD de tipo natural. En una modalidad, la afinidad de unión del p75NTR ECD variante de la invención aumenta para uno o más NGF, pro-NGF, BDNF, NT3, NT4 en comparación con el p75NTR ECD de tipo natural. En una modalidad, la afinidad de unión del p75NTR ECD variante de la invención disminuye para uno o más NGF, pro-NGF, BDNF, NT3, NT4 en comparación con el p75NTR ECD de tipo natural.

[0087] En una modalidad, el polipéptido aislado que comprende un p75NTR ECD en donde dicho p75NTR comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134 comprende una afinidad de unión alterada por NGF en comparación con el p75NTR ECD de tipo natural. En una modalidad, el p75NTR ECD de la invención comprende una afinidad de unión alterada para NGF en comparación con el p75NTR ECD de tipo natural, pero conserva una afinidad de unión similar para BDNF, NT3 y/o NT4. En una modalidad, la afinidad de unión del p75NTR ECD variante aumenta para NGF en comparación con el p75NTR ECD de tipo natural. En una modalidad, la afinidad de unión del p75NTR ECD variante de la invención disminuye para NGF en comparación con el p75NTR ECD de tipo natural. En una modalidad, el polipéptido aislado que comprende un p75NTR ECD en donde

dicho p75NTR comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134 comprende una afinidad de unión alterada para pro-NGF en comparación con el p75NTR ECD de tipo natural. En una modalidad, el p75NTR ECD de la invención comprende una afinidad de unión alterada para pro-NGF en comparación con el p75NTR ECD de tipo natural, pero conserva una afinidad de unión similar para BDNF, NT3 y/o NT4. En una modalidad, la afinidad de unión del p75NTR ECD variante aumenta para pro-NGF en comparación con el p75NTR ECD de tipo natural. En una modalidad, la afinidad de unión del p75NTR ECD variante de la invención disminuye para pro-NGF en comparación con el p75NTR ECD de tipo natural.

Ácidos nucleicos

[0088] En otro aspecto, la invención se refiere a un ácido nucleico asilado que codifica el polipéptido aislado que comprende un dominio extracelular del receptor de neurotrofina p75 (p75NTR), en donde dicho p75NTR comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134 en dicho p75NTR.

[0089] En una modalidad, el p75NTR es de un ser humano y el ácido nucleico aislado codifica la SEQ ID NO:84, SEQ ID NO:87, SEQ ID NO:90, SEQ ID NO:93 o SEQ ID NO:96. En una modalidad, el animal de compañía es un perro y el ácido nucleico aislado codifica la SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:55 o SEQ ID NO:58. En una modalidad, el animal de compañía es un gato y el ácido nucleico aislado codifica la SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:67 o SEQ ID NO:69.

[0090] “Molécula de ácido nucleico aislada” significa un ADN o ARN de origen genómico, ARNm, ADNc o sintético o alguna combinación de estos que no está asociado con todo o parte de un polinucleótido en el que el polinucleótido aislado se encuentra en la naturaleza o está unido a un polinucleótido al que no está unido en la naturaleza.

[0091] En otro aspecto, la invención se refiere a un vector, plásmido, transcripción, casete de expresión o construcción de ácido nucleico que comprende un ácido nucleico que codifica el ECD de un p75NTR, por ejemplo, el ECD o porción de este como se ha descrito anteriormente.

[0092] La construcción puede incluir una secuencia líder adecuada. El término secuencia líder se utiliza indistintamente con secuencia señal. Así, en algunas modalidades, la secuencia de ácido nucleico / construcción de ácido nucleico que codifica la proteína de fusión también puede comprender una secuencia líder. La secuencia líder forma parte de la proteína y se escinde cuando la proteína se secreta. Puede utilizarse cualquier secuencia líder adecuada, incluida una secuencia líder de línea germinal de inmunoglobulina nativa, como la secuencia líder p75 endógena de la especie pertinente (por ejemplo, humana, canina, equina, felina, bovina, camélida), la secuencia líder p75 endógena de una especie diferente, por ejemplo, una secuencia líder IgG de ratón u otras secuencias líderes conocidas en la técnica, por ejemplo, la secuencia líder Campath (véase US 8.362.208 B2) o una secuencia artificial. Tales secuencias líder pueden ayudar a mejorar la expresión de la proteína.

[0093] En otro aspecto, la invención se refiere a una célula hospedadora que comprende un ácido nucleico que codifica un ECD de un p75NTR humano, animal de compañía u otro, por ejemplo, el ECD, o un vector, plásmido, vector, transcripción, casete de expresión o construcción como se ha descrito anteriormente.

[0094] Los vectores de expresión de uso en la invención pueden construirse a partir de un vector de partida tal como un vector disponible comercialmente. Una vez construido el vector e insertada la molécula de ácido nucleico en el sitio adecuado del vector, el vector completo puede insertarse en una célula hospedadora adecuada para la amplificación y/o expresión del polipéptido.

[0095] El término “vector” significa una construcción que es capaz de administrar, y en algunos

aspectos expresar uno o más genes o secuencias de interés en una célula hospedadora. Los ejemplos de vectores incluyen, entre otros, vectores virales, vectores de expresión de ARN o ADN desnudo, vectores de fago, cósmido o plásmido, vectores de expresión de ADN o ARN asociados con agentes de agentes de condensación catiónica, vectores de expresión de ADN o ARN encapsulados en liposomas y ciertas células eucariotas, tales como células productoras.

[0096] La invención también se refiere a una célula hospedadora recombinante aislada que comprende uno o más plásmidos de moléculas de ácidos nucleicos, vectores, transcripciones o casetes de expresión como se describió anteriormente. La transformación de un vector de expresión en una célula hospedadora seleccionada puede llevarse a cabo mediante métodos bien conocidos que incluyen transfección, infección, coprecipitación con fosfato cálcico, electroporación, microinyección, lipofección, transfección mediada por DEAE-dextrano u otras técnicas conocidas. El método seleccionado dependerá en parte del tipo de célula hospedadora que se vaya a utilizar.

[0097] La célula hospedadora puede ser eucariota o procariota, por ejemplo, una célula bacteriana, vírica, vegetal, fúngica, de mamífero u otra célula hospedadora adecuada. En una modalidad, la célula es una célula de E. coli. En otra modalidad, la célula es una célula de levadura. En otra modalidad, la célula es una célula de ovario de hámster chino (CHO), una célula HeLa u otra célula que resulte evidente para el experto. Las líneas celulares de mamíferos disponibles como hospedadores para la expresión son bien conocidas en la técnica e incluyen, entre otras, líneas celulares inmortalizadas disponibles en la American Type Culture Collection (ATCC) y cualquier línea celular utilizada en un sistema de expresión conocido en la técnica puede utilizarse para fabricar los polipéptidos recombinantes de la invención.

[0098] En general, las células hospedadoras se transforman con un vector de expresión recombinante que comprende ADN que codifica una proteína. Entre las células hospedadoras que pueden emplearse se encuentran procariotas, levaduras o células eucariotas superiores. Los procariotas incluyen organismos gramnegativos o grampositivos, por ejemplo E. coli o bacilos. Las células eucariotas superiores incluyen células de insectos y líneas celulares establecidas de origen mamífero. Ejemplos de líneas celulares hospedadoras de mamíferos adecuadas incluyen las células COS-7, células L, células CI27, células 3T3, células de ovario de hámster chino (CHO), o sus derivados y líneas celulares relacionadas que crecen en medios libres de suero, células HeLa, líneas celulares BHK, la línea celular CVIIEBNA, células de riñón embrionario humano como 293, 293 EBNA o MSR 293, células epidérmicas humanas A431, células humanas Colo205, otras líneas celulares transformadas de primates, células diploides normales, cepas celulares derivadas de cultivos in vitro de tejido primario, explantes primarios, células HL-60, U937, HaK o Jurkat. Opcionalmente, pueden utilizarse líneas celulares de mamíferos como HepG2/3B, KB, NIH 3T3 o S49, por ejemplo, para la expresión del polipéptido cuando se desee utilizar el polipéptido en diversos ensayos de transducción de señales o de indicadores.

[0099] Otras células hospedadoras adecuadas son las células de insecto, utilizando sistemas de expresión como baculovirus en células de insecto, células vegetales, plantas transgénicas y animales transgénicos, y mediante vectores virales y de ácidos nucleicos.

[0100] Alternativamente, es posible producir el polipéptido en eucariotas inferiores como líneas celulares de hongos y levaduras o en procariotas como bacterias. Las levaduras adecuadas incluyen *S. cerevisiae, S. pombe*, cepas de *Kluyveromyces, Pichia pastoris, Candida*, o cualquier cepa de levadura capaz de expresar polipéptidos heterólogos. Las cepas bacterianas adecuadas incluyen *E. coli, B. subtilis, S. typhimurium* o cualquier cepa bacteriana

capaz de expresar polipéptidos heterólogos. Si la proteína se fabrica en levaduras o bacterias, puede ser deseable modificar el producto producido en ellas, por ejemplo, mediante fosforilación o glicosilación de los sitios apropiados, para obtener un producto funcional. Dichas uniones covalentes pueden realizarse mediante métodos químicos o enzimáticos conocidos.

[0101] Una célula hospedadora, cuando se cultiva en condiciones apropiadas, puede utilizarse para expresar una proteína que posteriormente puede recogerse del medio de cultivo (si la célula hospedadora la secreta en el medio) o directamente de la célula hospedadora que la produce (si no es secretada). La selección de una célula hospedadora adecuada dependerá de varios factores, como los niveles de expresión deseados, las modificaciones polipeptídicas deseables o necesarias para la actividad (como la glicosilación o la fosforilación) y la facilidad de plegamiento en una molécula biológicamente activa.

[0102] En otro aspecto, la invención también se refiere al uso de una proteína p75NTR aislada o una porción de esta como se ha descrito anteriormente en una proteína de fusión con otro resto, por ejemplo, con un resto de extensión de semivida como se describe con más detalle a continuación. Por lo tanto, la proteína p75NTR o una porción de esta puede proporcionarse covalentemente unida o acoplada a un resto de extensión de semivida. Alternativamente, puede proporcionarse incorporada en un liposoma. La invención se relaciona aún más con una proteína aislada del p75NTR o una porción de esta para el uso en terapia. Además, se proporciona una proteína p75NTR aislada o una porción de esta para su uso en el tratamiento de una enfermedad relacionada con el dolor. Tales enfermedades se describen en mayor detalle a continuación.

[0103] En algunas modalidades, para mejorar sus propiedades farmacocinéticas (PK), se extiende la semivida de la proteína p75NTR.

Proteínas de fusión

[0104] Así, en otro aspecto, la invención se refiere a una proteínas de fusión que comprende un dominio extracelular del receptor de neurotrofina p75 (p75NTR), que comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134 en dicho p75NTR, y otro resto. La proteína de fusión puede comprender un dominio extracelular del receptor de neurotrofina p75 (p75NTR), en donde dicho p75NTR comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134, y otro resto.

[0105] Por ejemplo, el otro resto puede ser un resto de extensión de la semivida. Por lo tanto, la proteína p75NTR o una porción de esta (por ejemplo, dominio extracelular) está acoplada a un resto de extensión de semivida. Como se ha descrito anteriormente, la proteína p75NTR o parte de esta puede ser humana, canina, felina, bovina, equina o camélida. La proteína p75NTR o porción de esta utilizada en la proteína de fusión puede comprender o consistir en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 34, 36, 38, 71, o 73 o una porción o variante de esta, en particular la variante puede comprender un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134. En ciertas modalidades, se elimina toda o parte de la región peduncular del p75NTR. En ciertas modalidades de la proteína o porción p75NTR canina, se elimina la región peduncular (por ejemplo, SEQ ID NO:9). En ciertas modalidades de la proteína o porción p75NTR felina, se elimina la región peduncular. En ciertas modalidades de la proteína o porción p75NTR humana, se elimina la región peduncular (por ejemplo, SEQ ID NO:25).

[0106] Se han descrito restos que extienden la semivida. Por ejemplo, el resto de extensión de semivida puede seleccionarse de la siguiente lista no limitativa: un dominio Fc de inmunoglobulina humana, un dominio Fc de inmunoglobulina de animal de compañía, polietilenglicol (PEG), derivados de PEG, lípidos simples, ácidos dicarboxílicos lipídicos,

lípidos con restos adicionales, aglutinantes de albúmina sérica humana o de animal de compañía, por ejemplo, aglutinantes de moléculas pequeñas o anticuerpos/fragmentos de anticuerpos que se unen a la albúmina sérica humana o de animales de compañía, a la albúmina sérica de animales de compañía, o al dominio de unión a albúmina (ABD) de la proteína G estreptocócica. Ejemplos de lípidos incluyen el péptido 1 similar al glucagón (GLP-1), los análogos GLP-1 liraglutida y semaglutida o el colesterol. Ventajosamente, el uso de un dominio Fc de inmunoglobulina facilita la purificación de la proteína. En particular, la unión Fc a la Proteína A puede utilizarse en los procedimientos de purificación. La presencia de un dominio Fc de inmunoglobulina también puede estabilizar el plegamiento general de la proteína de fusión, así como extender su semivida.

[0107] En ciertas modalidades, donde el resto de extensión de semivida es un dominio Fc, un aglutinante de albúmina sérica, el dominio extracelular de p75NTR y el resto de extensión de semivida son de / específicos de la misma especie. Por ejemplo, en una modalidad, el resto de extensión de semivida es un dominio Fc del animal de compañía correspondiente. Por ejemplo, si el dominio extracelular de p75NTR es canino, el dominio Fc es canino. Si el dominio extracelular de p75NTR es felino, el dominio Fc es felino. Si el dominio extracelular de p75NTR es equino, el dominio Fc es equino. Si el dominio extracelular de p75NTR es bovino, el dominio Fc es bovino.

[0108] En una modalidad, donde el resto de extensión de semivida es un dominio Fc, un aglutinante de albúmina sérica humana o albúmina sérica humana, el dominio extracelular de p75NTR y el resto de extensión de semivida son ambos derivados de humanos.

[0109] El aglutinante de albúmina sérica humana, por ejemplo, el anticuerpo o fragmento de este, puede ser totalmente humano o humanizado. El aglutinante de albúmina sérica humana se une a la albúmina sérica humana.

[0110] Sin embargo, dada la gran similitud de secuencia entre las proteínas p75, en ciertas modalidades, donde el resto de extensión de semivida es un dominio Fc de animal de compañía, un aglutinante de albúmina sérica de animal de compañía o una albúmina sérica de animal de compañía, la proteína o porción p75NTR y el resto de extensión de semivida no son del mismo animal de compañía / específicas del mismo. Por ejemplo, en una modalidad, el resto de extensión de semivida es el dominio Fc del animal de compañía correspondiente, pero la proteína p75 o parte de esta es de un animal de compañía diferente. Por ejemplo, para el tratamiento de perros, si el dominio Fc es canino, la proteína p75NTR o porción de esta, por ejemplo, el dominio extracelular puede ser de un animal diferente, por ejemplo, gato, vaca, caballo, cerdo o camello. Por ejemplo, para el tratamiento de gatos, si el dominio Fc es felino, la proteína p75NTR o porción de esta, por ejemplo, el dominio extracelular puede ser de un animal diferente, por ejemplo, perro, vaca, cerdo, caballo, o camello. Por ejemplo, para el tratamiento de gatos, si el dominio Fc es equino, la proteína p75NTR o porción de esta, por ejemplo, el dominio extracelular puede ser de un animal diferente, por ejemplo, gato, vaca, perro, cerdo o camello. En incluso otra modalidad, puede usarse p75 humano o una porción de este fusionado a Fc de animal de compañía.

[0111] El aglutinante de albúmina sérica de animal de compañía, por ejemplo, anticuerpo o fragmento de este, puede ser canino o caninizado, felino o felinizado, equino o equinizado, bovino o bovinizado, camélido o camelizado, cerdo o porcinizado. El aglutinante de albúmina sérica de animales de compañía puede unirse a la albúmina sérica canina, felina, bovina, equina o camélida.

[0112] En una modalidad, el resto de extensión de semivida es un dominio Fc de tipo natural o variante. El término variante se define anteriormente. Por ejemplo, una variante del dominio Fc puede tener una semivida modificada en comparación con el dominio Fc de tipo natural.

En una modalidad, el dominio Fc es un dominio Fc de tipo natural o una variante de este. Los dominios Fc variantes se describen, por ejemplo, en WO2020/142625.

[0113] Por “Fc” o “región Fc” o “dominio Fc” como se usa en este documento se entiende el polipéptido que comprende la región constante de un anticuerpo, que excluye el primer dominio de inmunoglobulina de la región constante (CH1) y, en algunos casos, parte de la bisagra. En una modalidad, el dominio Fc incluye los dominios de inmunoglobulina de región constante CH2, CH3 y la región bisagra entre CH1 y CH2 o parte de la región bisagra.

[0114] La digestión proteolítica de anticuerpos libera diferentes fragmentos denominados Fv (Fragmento variable), Fab (Fragmento de unión a antígeno) y Fc (Fragmento de cristalización). El fragmento Fc comprende las porciones carboxi-terminales de ambas cadenas H unidas por disulfuros. Los dominios constantes del fragmento Fc son responsables de mediar las funciones efectoras de un anticuerpo.

[0115] En canino, hay cuatro cadenas pesadas de IgG denominadas A, B, C y D. Estas cadenas pesadas representan cuatro subclases diferentes de IgG de perro, que se denominan IgG-A, IgG-B, IgG-C e IgG-D. El ADN y las secuencias de aminoácidos de estas cuatro cadenas pesadas fueron identificados por primera vez por Tang et al. (Vet. Immunol. Immunopathol. 80: 259-270 (2001)). Las secuencias de aminoácidos y ADN ilustrativas para estas cadenas pesadas también están disponibles en las bases de datos de GenBank (IgGA: número de acceso AAL35301.1, IgGB: número de acceso AAL35302.1, IgGC: número de acceso AAL35303.1, IgGD: número de acceso AAL35304.1). Las secuencias de aminoácidos para IgG-A, IgG-B, IgG-C e IgG-D utilizadas por los inventores y de acuerdo con los aspectos y modalidades de la invención se proporcionan como SEQ ID No. 15, 16, 17, 18).

[0116] En humanos, Fc se refiere a los dos últimos dominios de inmunoglobulina de región constante de IgA, IgD e IgG, los tres últimos dominios de inmunoglobulina de región constante de IgE e IgM, y la bisagra flexible del extremo N a estos dominios. Para IgA e IgM, Fc puede incluir la cadena J. Para IgG, el dominio Fc comprende los dominios de inmunoglobulina CH2 y CH3 y la región de bisagra inferior entre CH1 y CH2. Aunque los límites de la región Fc pueden variar, la región Fc de la cadena pesada de IgG humana se define generalmente para que incluya los residuos C226 o P230 a su terminal carboxilo, en donde la numeración es de acuerdo con el índice EU según Kabat.

[0117] Fc, tal como se utiliza en este documento, puede referirse a la región Fc de forma aislada, o a esta región en el contexto de una fusión Fc ("composición de fusión" o "construcción de fusión"), tal como se describe en este documento. Los dominios Fc incluyen la totalidad o parte de una región Fc; es decir, las secuencias de extremo N o C pueden eliminarse de los dominios Fc de tipo natural o variante, siempre que esto no afecte a la función.

[0118] En resumen, las funciones de las IgG se consiguen generalmente mediante la interacción entre la región Fc de la Ig y un receptor Fcγ (FcγR) u otra molécula de unión, a veces en una célula efectora. Esto puede desencadenar que las células efectores eliminen a las células diana a las que están unidos los anticuerpos a través de sus regiones variables (V). Asimismo, los anticuerpos dirigidos contra antígenos solubles pueden formar inmunocomplejos dirigidos a FcγR, lo que provoca la captación (opsonización) de los inmunocomplejos o la activación de las células efectoras y la liberación de citocinas.

[0119] Por “receptor Fc gamma”, “FcγR” o “FcgammaR” como se utiliza en este documento se entiende cualquier miembro de la familia de proteínas que se unen a la región Fc del anticuerpo IgG y está codificado por un gen FcγR.

[0120] En humanos, se han caracterizado tres clases de FcγR, aunque la situación se complica aún más por la aparición de múltiples formas de receptores. Las tres clases son:

[0121] (i) FcγRI (CD64), que incluye las isoformas FcγRIa, FcγRIb y FcγRIc, se une a la IgG monomérica con gran afinidad y se expresa en macrófagos, monocitos y, en ocasiones, neutrófilos y eosinófilos;
[0122] (ii) FcγRII (CD32) se une a IgG complejas con afinidad media o baja y se expresa ampliamente. Estos receptores pueden dividirse en dos tipos importantes, FcγRIIa y FcγRIIb. La forma "a" del receptor se encuentra en muchas células implicadas en la eliminación (por ejemplo, macrófagos, monocitos, neutrófilos) y parece capaz de activar el proceso de eliminación y se presenta como dos alelos alternativos. La forma "b" parece desempeñar un papel en los procesos inhibitorios y se encuentra en las células B, los macrófagos y los mastocitos y eosinófilos. En las células B, su función parece ser la de suprimir la producción de inmunoglobulinas y el cambio de isotipo, por ejemplo, a la clase IgE. En los macrófagos, la forma b actúa inhibiendo la fagocitosis a través de FcγRIIa. En eosinófilos y mastocitos, la forma b puede ayudar a suprimir la activación de estas células mediante la unión de IgE a su receptor independiente y
[0123] (iii) FcγRIII (CD16) se une a IgG con afinidad media a baja y existe como dos tipos. El FcγRIIIa se encuentra en células NK, macrófagos, eosinófilos y algunos monocitos y células T y media la ADCC.
[0124] El FcγRIIIb se expresa en gran medida en los neutrófilos. Ambos tipos tienen diferentes formas alotípicas.
[0125] Los receptores Fc caninos se describen en Bergeron et al L.M. Bergeron et al.; Veterinary Immunology and Immunopathology 157 (2014) 31– 41. El canino tiene RI, RIIb, RIII, pero no Riia.
[0126] Además de unirse a los FcγR, los anticuerpos IgG pueden activar el complemento y esto también puede dar lugar a la lisis celular, la opsonización o la liberación de citocinas y la inflamación. La región Fc también interviene en propiedades como el transporte de IgG al neonato (a través del denominado "FcRn"), el aumento de la semivida (que también se cree que se efectúa a través de un receptor de tipo FcRn) y la autoagregación. La región Fc también es responsable de la interacción con la proteína A y la proteína G (interacción que parece ser análoga a la unión del FcRn).
[0127] Por “función efectora” como se utiliza en este documento se entiende un evento bioquímico que resulta de la interacción de una región Fc de un anticuerpo con un receptor o ligando Fc. Las funciones efectoras incluyen, entre otras, la citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos (ADCC), la fagocitosis mediada por células dependientes de anticuerpos (ADCP) y la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC).
[0128] En una modalidad, el ECD de p75NTR y el otro resto están unidos con un resto de enlace o conjugados de otro modo, unidos o enlazados covalentemente o no covalentemente. El experto conoce los enlazadores adecuados. Por ejemplo, el enlazador es un enlazador peptídico, como un enlazador rico en glicina y/o alanina y/o treonina y/o serina, por ejemplo, un enlazador glicina-serina, como (G4S)n, en donde n es de 1 a 4.
[0129] En otra modalidad, el enlazador puede ser escindible. El enlazador puede ser un enlazador lábil a ácidos, un enlazador escindible proteolíticamente, un enlazador escindible enzimáticamente, un enlazador sensible a la oxidación.
[0130] En una modalidad de la proteína de fusión, la proteína p75NTR de animal de compañía o una porción de esta comprende o consiste en una variante de p75NTR ECD canina o una parte de esta. En una modalidad, el ECD es canino y comprende o consiste en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:55 o SEQ ID NO:58. En una modalidad, el ECD es felino y comprende o consiste en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:67 o SEQ ID

NO:69. En una modalidad, el ECD es humano y comprende o consiste en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO:84, SEQ ID NO:87, SEQ ID NO:90, SEQ ID NO:93 o SEQ ID NO:96.

[0131] Así, en una modalidad, la invención se refiere a una proteína de fusión que comprende un p75NTR ECD canino unido a un dominio Fc canino. En una modalidad, el ECD comprende o consiste en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:55 o SEQ ID NO:58 o una variante de este unido operativamente a un dominio Fc canino. En una modalidad, la invención se refiere a una proteína de fusión que comprende un p75NTR ECD felino unido a un dominio Fc felino. En una modalidad, el ECD comprende o consiste en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:67 o SEQ ID NO:69 o una variante de este unido operativamente a un dominio Fc felino. En una modalidad, la invención se refiere a una proteína de fusión que comprende un p75NTR ECD humano unido a un dominio Fc humano. En una modalidad, el ECD comprende o consiste en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO:84, SEQ ID NO:87, SEQ ID NO:90, SEQ ID NO:93 o SEQ ID NO:96 o una variante de este unido operativamente a un dominio Fc humano.

[0132] En una modalidad, la proteína de fusión de la presente invención se une preferentemente a cualquiera de uno o más de NGF, BDNF, NT3 o NT4/5 con una afinidad de unión (Kd) de aproximadamente 1 pM a aproximadamente 100 nM. En algunas modalidades preferidas, la afinidad de unión (Kd) está entre aproximadamente 5pM y cualquiera de aproximadamente 10 pM, 20pM, 40pM, 50pM 100pM, 0,2nM, 0,5nM, 1nM 1,5nM 2 nM, 2,5 nM, 3 nM, 3,5 nM, 4 nM, 4,5 nM, 5 nM, 5,5 nM, 6 nM, 6,5 nM, 7 nM, 7,5 nM, 8 nM, 8,5 nM, 9 nM, 9,5 nM, 10 nM, 15 nM, 20 nM, 25 nM, 30 nM, 35 nM, 40 nM, 45 nM, 50 nM o 100 nM medido en un ensayo de unión in vitro para NGF, pro-NGF, BDNF, NT3 o NT4/5, tal como se describe en este documento. Se prefiere el intervalo subnanomolar.

[0133] En una modalidad, la proteína de fusión comprende la SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:55 o SEQ ID NO:58 o una variante de esta. Las proteínas de fusión según la invención pueden incluir un p75NTR ECD variante con un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134, unido operativamente a un dominio Fc canino. El dominio Fc en la construcción de proteína de fusión puede ser un dominio Fc canino de tipo natural como la SEQ ID NO:20. El dominio Fc en la construcción de proteína de fusión puede ser una variante del dominio Fc canino que se ha modificado para aumentar la semivida, por ejemplo SEQ ID NO:21. En este dominio, la mutación YTE se ha introducido en los residuos Y252 - T254 del dominio Fc de tipo natural utilizando la numeración EU. La proteína de fusión puede generarse combinando un p75NTR ECD variante como SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:55 o SEQ ID NO:58 con un dominio Fc canino como SEQ ID NO:20 o 21. La proteína de fusión puede comprender o consistir en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:56 o SEQ ID NO:59.

[0134] En una modalidad, la proteína de fusión comprende un p75NTR ECD felino de tipo natural enlazado operativamente a un Fc felino. En una modalidad, la proteína de fusión comprende o consiste en la SEQ ID NO:39, tal proteína de fusión incluye un p75 ECD felino de tipo natural enlazado operativamente a un Fc felino. El dominio Fc en la construcción de la SEQ ID NO:39 es un dominio IgG2 Fc felino de tipo natural. En una modalidad, la proteína de fusión comprende o consiste en la SEQ ID NO:42, tal proteína de fusión incluye un p75 ECD felino enlazado operativamente a un Fc felino. El dominio Fc en la construcción de la SEQ ID NO:42 es un dominio IgG1 Fc felino de tipo natural. En otra modalidad, la proteína de fusión comprende o consiste en la SEQ ID NO:44, tal proteína de fusión incluye un p75 ECD felino

enlazado operativamente a un Fc felino. El dominio Fc en la construcción de la SEQ ID NO:44 es un dominio IgG3 Fc felino de tipo natural.

[0135] En una modalidad, la proteína de fusión comprende la SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:67 o SEQ ID NO:69 o una variante de esta. Las proteínas de fusión según la invención pueden incluir un p75NTR ECD felino variante con un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134, unido operativamente a un dominio Fc felino. El dominio Fc en la construcción de proteína de fusión puede ser un dominio Fc felino de tipo natural como la SEQ ID NO:24, 25, 26 o 41. Por ejemplo, la proteína de fusión puede generarse combinando un p75NTR ECD variante como SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:67 o SEQ ID NO:69 con un dominio Fc felino como SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26 o SEQ ID NO:41. El dominio Fc en la construcción de proteína de fusión puede ser una variante del dominio Fc felino que se ha modificado para aumentar la semivida, el experto sería capaz de determinar las variantes de extensión de semivida adecuadas. La proteína de fusión puede comprender o consistir en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:68 o SEQ ID NO:70.

[0136] En las proteínas de fusión de la invención pueden usarse dominios Fc modificados de animales de compañía que incluyen una mutación o mutaciones que prolongan la semivida, por ejemplo, dominios Fc caninos, felinos o equinos. Un experto sabría que cualquier otra mutación conocida que aumente la semivida también podría introducirse en el dominio Fc.

[0137] En una modalidad, la proteína de fusión comprende o consiste en la SEQ ID NO:85, SEQ ID NO:88, SEQ ID NO:91, SEQ ID NO:94 o SEQ ID NO:97 o una variante de estas. Las proteínas de fusión según la invención pueden incluir un p75NTR ECD variante con un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134, unido operativamente a un dominio Fc humano. El dominio Fc en la construcción de proteína de fusión puede ser un dominio Fc humano de tipo natural como la SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78, SEQ ID NO:79 o SEQ ID NO:80. El dominio Fc en la
construcción de proteína de fusión puede ser una variante del dominio Fc humano que se ha modificado para aumentar la semivida. Las modificaciones adecuadas para aumentar la semivida de un dominio Fc humano son conocidas en la técnica. La proteína de fusión puede generarse combinando un p75NTR ECD variante como SEQ ID NO:84, SEQ ID NO:87, SEQ ID NO:90, SEQ ID NO:93 o SEQ ID NO:96 con un dominio Fc humano como SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78, SEQ ID NO:79 o SEQ ID NO:80. La proteína de fusión puede comprender o consistir en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO:85, SEQ ID NO:88, SEQ ID NO:91, SEQ ID NO:94 o SEQ ID NO:97.

[0138] De acuerdo con la presente invención, las proteínas de fusión demuestran propiedades biológicas ventajosas que incluyen solubilidad mejorada, estabilidad y/o semivida sérica mejorada. Los ejemplos muestran que las moléculas descritas son muy estables tanto a la temperatura como al estrés químico, mostrando desdoblamiento solo cuando se incuban a una temperatura superior a 70°C sin agregación hasta 95°C con Tm1 alrededor de 67°C. La mejora de la semivida permite una dosificación menos frecuente (una sola administración en comparación con los tratamientos existentes en los que se requiere una administración diaria). Este efecto se demuestra a la vez que presenta fuertes efectos analgésicos. En ciertas modalidades, la proteína de fusión de la invención tiene una semivida in vivo de aproximadamente o más de cualquiera de 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160,

62, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208 o 210 horas +/- 1 hora, además preferiblemente la proteína de fusión p75NTR(NBP)-Fc de la invención tiene una semivida in vivo de aproximadamente o más de 24 horas.

[0139] En otra modalidad, la proteína de fusión de la invención tiene una semivida in vitro de aproximadamente o más de cualquiera de 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 62, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208 o 210 días +/- 1 día, además la proteína de fusión tiene una semivida in vitro de aproximadamente o más de 6 días o más de 1 mes. En una modalidad, la semivida es de 14 días.

[0140] Según las modalidades preferidas anteriores, la semivida in vivo puede ser la semivida en ratas o en el animal de compañía correspondiente, por ejemplo, en un perro o gato o caballo o cerdo o camello, o en un ser humano.

[0141] Las proteínas de fusión de la invención pueden funcionar a una dosis muy baja, pero son altamente eficaces.

[0142] Según la presente invención, las proteínas de fusión presentan un buen perfil de seguridad. Por ejemplo, los sujetos mantienen un peso corporal y unos parámetros hematológicos normales y no generan anticuerpos antifármaco tras la administración de las proteínas de fusión.

[0143] En otro aspecto, la invención se refiere a un ácido nucleico aislado que codifica una proteína de fusión como la descrita anteriormente, por ejemplo, un ácido nucleico que codifica una proteína de fusión como SEQ ID NO:47, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:56 o SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:85, SEQ ID NO:88, SEQ ID NO:91, SEQ ID NO:94 o SEQ ID NO:97. En una modalidad, el ácido nucleico comprende o consiste en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:57 o SEQ ID NO:60. En una modalidad, el ácido nucleico comprende o consiste en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO:86, SEQ ID NO:89, SEQ ID NO:92, SEQ ID NO:95 o SEQ ID NO:98.

[0144] En otro aspecto, la invención se refiere a un vector, plásmido, vector, transcripción, casete de expresión o construcción que comprende un ácido nucleico descrito anteriormente.

[0145] En otro aspecto, la invención se refiere a una célula hospedadora que comprende un vector de ácido nucleico, plásmido, vector, transcripción, casete de expresión o construcción como se ha descrito anteriormente. Las células hospedadoras adecuadas se describen en otra parte de este documento.

[0146] En otra modalidad, la proteína P75NTR, parte de esta o proteína de fusión está marcada con una etiqueta detectable o funcional. Un marcador puede ser cualquier molécula que produce o puede inducirse para producir una señal, que incluye, de modo no taxativo, fluoróforos, fluorescentes, radiomarcadores, enzimas, quimioluminiscentes, un marcador activo de resonancia magnética nuclear o fotosensibilizadores. Por lo tanto, la unión se puede detectar y/o medir mediante la detección de fluorescencia o luminiscencia, radiactividad, actividad enzimática o absorbancia de luz.

Composiciones farmacéuticas

[0147] En otro aspecto, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un polipéptido aislado que comprende un dominio extracelular del receptor de neurotrofina p75

(p75NTR), que comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134 en dicho p75NTR, o una proteína de fusión de la invención. La proteína de fusión o composición farmacéutica descrita en este documento puede administrarse por cualquier vía conveniente, que incluye, entre otras, oral, tópica, parenteral, sublingual, rectal, vaginal, ocular, intranasal, pulmonar, intradérmica, intravítrea, intratumoral, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intracerebral, transdérmica, transmucosa, por inhalación o tópica, particularmente en los oídos, la nariz, los ojos o la piel o por inhalación. En otra modalidad, la administración es del ácido nucleico que codifica el fármaco, por ejemplo, se administra un ácido nucleico que codifica la molécula de la invención.

[0148] La administración parenteral incluye, por ejemplo, administración intravenosa, intramuscular, intraarterial, intraperitoneal, intranasal, rectal, intravesical, intradérmica, tópica, intraarticular o subcutánea. Preferentemente, las composiciones se administran por vía parenteral.

[0149] El portador o vehículo farmacéuticamente aceptable puede ser particulado, de modo que las composiciones estén, por ejemplo, en forma de comprimido o polvo. El término "portador" se refiere a un diluyente, adyuvante o excipiente, con el que se administra un conjugado de anticuerpo y fármaco de la presente invención. Tales vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos, tales como agua y aceites, incluyendo los aceites de petróleo, animales, vegetales o sintéticos, tales como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. Los portadores pueden ser solución salina, goma arábiga, gelatina, pasta de almidón, talco, queratina, sílice coloidal, urea y similares. Además, se pueden utilizar agentes auxiliares, estabilizantes, espesantes, lubricantes y colorantes. En una modalidad, cuando se administra a un sujeto, el polipéptido de la presente invención o composiciones y portadores farmacéuticamente aceptables son estériles. El agua es un portador preferido cuando los conjugados de anticuerpo y fármaco de la presente invención se administran por vía intravenosa. Las soluciones salinas y las soluciones acuosas de dextrosa y glicerol también se pueden emplear como portadores líquidos, particularmente para soluciones inyectables. Los portadores farmacéuticos adecuados también incluyen excipientes, tales como almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, tiza, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche en polvo descremada, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol y similares. Si se desea, las presentes composiciones también pueden contener cantidades menores de agentes humectantes o emulsionantes, o de agentes tamponantes del pH.

[0150] La composición farmacéutica puede estar en forma de un líquido, por ejemplo, una solución, jarabe, solución, emulsión o suspensión. El líquido puede ser útil para la administración oral o la administración por inyección, infusión (por ejemplo, infusión IV) o por vía subcutánea.

[0151] Cuando se destina para administración oral, la composición puede estar en forma sólida o líquida, donde las formas semisólidas, semilíquidas, de suspensión y de gel se incluyen dentro de las formas consideradas en este documento como sólidas o líquidas.

[0152] Como una composición sólida para administración oral, la composición se puede formular en forma de polvo, gránulo, comprimido, píldora, cápsula, goma de mascar, oblea o similar. Dicha composición sólida típicamente contiene uno o más diluyentes inertes. Además, pueden estar presentes uno o más de los siguientes: aglutinantes, tales como carboximetilcelulosa, etilcelulosa, celulosa microcristalina, o gelatina; excipientes, tales como almidón, lactosa o dextrinas, agentes desintegradores, tales como ácido algínico, alginato sódico, almidón de maíz y similares; lubricantes, tales como estearato de magnesio; deslizantes, tales como dióxido de silicio coloidal; edulcorantes, tales como sacarosa o

sacarina; aromatizantes, tales como menta, salicilato de metilo o naranja; y colorantes. Cuando la composición está en forma de una cápsula (por ejemplo, una cápsula de gelatina), puede contener, además de los materiales del tipo anterior, un vehículo líquido tal como polietilenglicol, ciclodextrina o un aceite graso.

[0153] Cuando se destina a la administración oral, una composición puede comprender uno o más de un agente edulcorante, conservantes, tinte/colorante y potenciador del sabor. En una composición para administración mediante inyección, también se pueden incluir uno o más de un tensioactivo, conservante, agente humectante, agente dispersante, agente de suspensión, amortiguador, estabilizador y agente isotónico.

[0154] Las composiciones pueden tomar la forma de una o más unidades de dosificación.

[0155] En modalidades específicas, puede ser deseable administrar la composición localmente en el área que necesita tratamiento, o mediante inyección o infusión intravenosa.

[0156] La cantidad del polipéptido, proteína de fusión o composición farmacéutico descrito en este documento es eficaz/activo en el tratamiento de una enfermedad o afección particular dependerá de la naturaleza de la enfermedad o afección, y se puede determinar mediante técnicas clínicas estándar. Además, opcionalmente se pueden utilizar ensayos in vitro o in vivo para ayudar a identificar los intervalos de dosificación óptimos. La dosis precisa a emplear en las composiciones también dependerá de la vía de administración, y de la gravedad de la enfermedad o enfermedad, y se debe decidir de acuerdo con el criterio del médico y las circunstancias de cada paciente. Se tendrán en cuenta factores como la edad, el peso corporal, el sexo, la dieta, el tiempo de administración, la tasa de excreción, el estado del huésped, las combinaciones de fármacos, la sensibilidad a las reacciones y la gravedad de la enfermedad.

[0157] Típicamente, la cantidad es al menos aproximadamente 0,01% de un polipéptido de la presente invención en peso de la composición. Cuando se destina a la administración oral, esta cantidad se puede variar para variar de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 80% en peso de la composición. Las composiciones orales preferidas pueden comprender de aproximadamente 4% a aproximadamente 50% del polipéptido de la presente invención en peso de la composición.

[0158] Las composiciones pueden prepararse de modo que una unidad de dosificación parenteral contenga de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 2% en peso del polipéptido de la presente invención.

[0159] Para usos terapéuticos la composición puede comprender de aproximadamente 0,01 mg/kg a 250 mg/kg, 0,05 mg/kg a 250 mg/kg, 0,1 mg/kg a 250 mg/kg, 0,5 mg/kg a 250 mg/kg, 1 mg/kg a 250 mg/kg, 0,01 mg/kg a 100 mg/kg, 0,05 mg/kg a 100 mg/kg, 0,1 mg/kg a 100 mg/kg, 0,5 mg/kg a 100 mg/kg, 1 mg/kg a 100 mg/kg, 0,01 mg/kg a 50 mg/kg, 0,05 mg/kg a 50 mg/kg, 0,1 mg/kg a 50 mg/kg, 0,5 mg/kg a 50 mg/kg, 1 mg/kg a 50 mg/kg, 0,01 mg/kg a 20 mg/kg, 0,05 mg/kg a 20 mg/kg, 0,1 mg/kg a 20 mg/kg, 0,5 mg/kg a 20 mg/kg, 1 mg/kg a 20 mg/kg. Para la administración por inyección, la composición puede comprender desde normalmente aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 250 mg/kg del peso corporal del sujeto, preferentemente, entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 20 mg/kg del peso corporal del sujeto, y más preferentemente aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg del peso corporal del sujeto. En una modalidad, la composición se administra a una dosis de aproximadamente 1 a 30 mg/kg, por ejemplo, aproximadamente 5 a 25 mg/kg, aproximadamente 10 a 20 mg/kg, aproximadamente 1 a 5 mg/kg, o aproximadamente 3 mg/kg. El programa de dosificación puede variar de, por ejemplo, una vez por semana a una vez cada 2, 3 o 4 semanas o más.

[0160] El tratamiento puede ser, por ejemplo, una vez al mes o cada dos meses. Esto es

ventajoso con respecto a la administración diaria, ya que mejora el cumplimiento y minimiza el estrés del sujeto.

[0161] Tal como se usa en este documento, "tratar", "que trata" o "tratamiento" significa inhibir o aliviar una enfermedad o enfermedad. Por ejemplo, el tratamiento puede incluir un aplazamiento del desarrollo de los síntomas asociados con una enfermedad o enfermedad, y/o una reducción en la gravedad de dichos síntomas que se desarrollarán, o se espera que se desarrollen, con dicha enfermedad. Los términos incluyen mejorar los síntomas existentes, prevenir síntomas adicionales y mejorar o prevenir las causas subyacentes de dichos síntomas. Por lo tanto, los términos denotan que se está confiriendo un resultado beneficioso a al menos algunos de los sujetos que están siendo tratados. Muchos tratamientos médicos son efectivos para algunos, pero no todos, los pacientes que se someten al tratamiento.

[0162] El término “sujeto” o “paciente” se refiere a un ser humano o animal que es objeto de tratamiento, observación o experimento, preferiblemente un ser humano o un animal de compañía, como un canino o un felino, o un animal como un caballo, vaca, cerdo o camello.

Usos terapéuticos

[0163] En otro aspecto, la invención se refiere al uso de un polipéptido aislado que comprende una proteína p75NTR o porción de esta, proteína de fusión o composición farmacéutica descrita en este documento en el tratamiento o prevención de una enfermedad. En otro aspecto, la divulgación se refiere al uso de un polipéptido, proteína de fusión o composición farmacéutica descrita en este documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de una enfermedad como se indica en este documento. La invención se refiere además a un método de tratamiento de una enfermedad en un sujeto que comprende una cantidad eficaz del polipéptido, proteína de fusión o composición farmacéutica como se describe en este documento a dicho sujeto. La invención se refiere además a un polipéptido aislado que comprende una proteína p75NTR descrita en este documento o una proteína de fusión descrita en este documento para usar en el tratamiento o prevención de una enfermedad descrita en este documento.

[0164] Por ejemplo, la enfermedad es un trastorno relacionado con NGF. Por ejemplo, la enfermedad es un trastorno relacionado con pro-NGF.

[0165] En una modalidad, el trastorno relacionado con NGF se selecciona del grupo que consiste en: enfermedades cardiovasculares, aterosclerosis, obesidad, diabetes tipo 2, síndrome metabólico, dolor e inflamación. En una modalidad, el trastorno relacionado con el NGF comprende dolor. En una modalidad, la composición farmacéutica se utiliza en el tratamiento del dolor. En una modalidad, la composición farmacéutica se utiliza para el tratamiento de un dolor y el tipo de dolor se selecciona de dolor de osteoartritis, dolor de artritis reumatoide, dolor quirúrgico y posquirúrgico, dolor incisional, dolor inflamatorio general, dolor de cáncer, dolor de trauma, dolor neuropático, neuralgia, dolor de neuropatía diabética, dolor asociado con enfermedades reumáticas, dolor asociado con enfermedades musculoesqueléticas, dolor visceral y dolor gastrointestinal. En una modalidad, el dolor comprende dolor de osteoartritis. En una modalidad, el dolor comprende dolor quirúrgico y posquirúrgico. En una modalidad, el dolor comprende dolor de cáncer.

[0166] En una o más modalidades, el polipéptido aislado que comprende un dominio extracelular del receptor de neurotrofina p75 (p75NTR), que comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134 dentro de dicho p75NTR, proteína de fusión o composición farmacéutica de la invención es para usar en un humano, canino, felino, equino, bovino o camélido. En una o más modalidades, la proteína p75NTR o porción de esta, proteína de fusión o composición farmacéutica de la invención es para usar en un canino. En una o más modalidades, la proteína p75NTR o porción de esta, proteína de

fusión o composición farmacéutica de la invención es para usar en un felino. En una o más modalidades, la proteína variante de p75NTR o porción de esta, proteína de fusión o composición farmacéutica de la invención es para usar en un equino. En una o más modalidades, la proteína p75NTR o porción de esta, proteína de fusión o composición farmacéutica de la invención es para usar en un bovino. En una o más modalidades, la proteína p75NTR o porción de esta, proteína de fusión o composición farmacéutica de la invención es para usar en un camélido. En una o más modalidades, la proteína p75NTR o porción de esta, proteína de fusión o composición farmacéutica de la invención es para usar en un humano.

[0167] En una modalidad, el polipéptido aislado que comprende un dominio extracelular del receptor de neurotrofina p75 (p75NTR), que comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134 dentro de dicho p75NTR, la proteína de fusión o composición farmacéutica de la invención se administra junto con uno o más agentes terapéuticos, por ejemplo, un agente terapéutico para tratar el dolor.

[0168] Las proteínas p75NTR de la invención se administran opcionalmente en combinación con uno o más agentes activos, incluidos otros agentes analgésicos. Dichos agentes activos incluyen agentes analgésicos, antihistamínicos, antipiréticos, antiinflamatorios, antibióticos, antivirales y anticitocinas. Los agentes activos incluyen agonistas, antagonistas y moduladores de TNF-α, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13, IL-18, IFN-α, IFN-γ, BAFF, CXCL13, IP-10, VEGF, EPO, EGF, HRG, factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), hepcidina, incluidos anticuerpos reactivos contra cualquiera de los anteriores, y anticuerpos reactivos contra cualquiera de sus receptores. Los agentes activos también incluyen, entre otros, ácidos 2-arilpropiónicos, aceclofenaco, acemetacina, ácido acetilsalicílico (Aspirina), alclofenaco, alminoprofeno, amoxiprin, ampirona, ácidos arilalcanoicos, azapropazona, benorilato/benorilato, benoxaprofeno, bromfenaco, carprofeno, celecoxib, salicilato de colina y magnesio, clofezona, inhibidores de la COX-2, dexibuprofeno, dexketoprofeno, diclofenaco, diflunisal, droxicam, etenzamida, etodolaco, etoricoxib, faislamina, ácidos fenámicos, fenbufeno, fenoprofeno, ácido flufenámico, flunoxaprofeno, flurbiprofeno, ibuprofeno, ibuproxam, indometacina, indoprofeno, kebuzona, ketoprofeno, ketorolaco, lomoxicam, loxoprofeno, lumiracoxib, salicilato de magnesio, ácido meclofenámico, ácido mefenámico, meloxicam, metamizol, salicilato de metilo, mofebutazona, nabumetona, naproxeno, ácidos n-arilantranílicos, oxametacina, oxaprozina, oxicams, oxifenbutazona, parecoxib, fenazona, fenilbutazona, fenilbutazona, piroxicam, pirprofeno, profenos, proglumetacina, derivados de pirazolidina, rofecoxib, salicilato de salicil, salicilamida, salicilatos, sulfinpirazona, sulindaco, suprofeno, tenoxicam, ácido tiaprofénico, ácido tolfenámico, tolmetina y valdecoxib.

[0169] Un antihistamínico puede ser cualquier compuesto que se oponga a la acción de la histamina o a su liberación desde las células (por ejemplo, los mastocitos). Los antihistamínicos incluyen, entre otros, acrivastina, astemizol, azatadina, azelastina, betatastina, bromfeniramina, buclizina, cetirizina, análogos de la cetirizina, clorfeniramina, clemastina, CS 560, ciproheptadina, desloratadina, dexclorfeniramina, ebastina, epinastina, fexofenadina, HSR 609, hidroxizina, levocabastina, loratidina, metescopolamina, mizolastina, norastemizol, fenindamina, prometazina, pirilamina, terfenadina y tranilast.

[0170] Los antibióticos incluyen, entre otros, amikacina, aminoglucósidos, amoxicilina, ampicilina, ansamicinas, arsfenamina, azitromicina, azlocilina, aztreonam, bacitracina, carbacefem, carbapenems, carbenicilina, cefaclor, cefadroxil, cefalexina, cefalotina, cefalotino, cefamandole, cefazolina, cefdinir, cefditoren, cefepima, cefixima, cefoperazona, cefotaxima, cefoxitina, cefpodoxima, cefprozil, ceftazidima, ceftibuten, ceftizoxima, ceftobiprol, ceftriaxona, cefuroxima, cefalosporinas, cloranfenicol, cilastatina, ciprofloxacino,

claritromicina, clindamicina, cloxacilina, colistina, cotrimoxazol, dalfopristina, demeclociclina, dicloxacilina, diritromicina, doripenem, doxiciclina, enoxacina, ertapenem, eritromicina, etambutol, flucloxacilina, fosfomicina, furazolidona, ácido fusídico, gatifloxacina, geldanamicina, gentamicina, glicopéptidos, herbimicina, imipenem, isoniazida, kanamicina, levofloxacino, lincomicina, linezolid, lomefloxacino, loracarbef, macrólidos, mafenida, meropenem, meticilina, metronidazol, mezlocilina, minociclina, monobactámicos, moxifloxacina, mupirocina, nafcilina, neomicina, netilmicina, nitrofurantoína, norfloxacina, ofloxacina, oxacilina, oxitetraciclina, paromomicina, penicilina, penicilinas, piperacilina, platensimicina, polimixina B, polipéptidos, prontosil, pirazinamida, quinolonas, quinupristina, rifampicina, rifampina, roxitromicina, espectinomicina, estreptomicina, sulfacetamida, sulfametozol, sulfanilimida, sulfasalazina, sulfisoxazol, sulfonamidas, teicoplanina, telitromicina, tetraciclina, tetraciclinas, ticarcilina, tinidazol, tobramicina, trimetoprima, trimetoprima-sulfametoxazol, troleandomicina, trovafloxacina y vancomicina.

[0171] Los agentes activos también incluyen aldosterona, beclometasona, betametasona, corticosteroides, cortisol, acetato de cortisona, acetato de deoxicorticosterona, dexametasona, acetato de fludrocortisona, glucocorticoides, hidrocortisona, metilprednisolona, prednisolona, prednisona, esteroides y triamcinolona. También se contempla cualquier combinación adecuada de estos agentes activos.

[0172] La forma más común de tratamiento actual para la OA y el dolor relacionado con la OA son los NSAID (que también son medicamentos contra el dolor). Los NSAID no siempre son suficientemente eficaces, suelen tener que administrarse a diario y ninguno está aprobado en EE. UU. para su uso a largo plazo en gatos. Además, existen problemas de seguridad y tolerabilidad con el uso de NSAID tanto en perros como en gatos, especialmente con el tratamiento a largo plazo. No se recomienda coadministrar NSAID con mAbs anti-NGF durante periodos prolongados.

[0173] En ciertas modalidades, el tratamiento comprende la coadministración de suplementos dietéticos que contienen ácidos grasos Omega-3, microlactina y/o glucosamina/condroitina como ayuda para la salud articular. Adequan (glicosaminoglicano polisulfatado) es un fármaco modificador de la enfermedad aprobado por la FDA que inhibe la pérdida de cartílago y también puede coadministrarse.

[0174] El polipéptido aislado que comprende un dominio extracelular del receptor de neurotrofina p75 (p75NTR), que comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134 dentro de dicha proteína de fusión p75NTR o composición farmacéutica puede administrarse al mismo tiempo o en un momento diferente que la otra terapia o compuesto terapéutico o terapia, por ejemplo, simultáneamente, por separado o secuencialmente.

[0175] En otro aspecto, la invención se refiere al uso de un polipéptido aislado que comprende una proteína p75NTR o porción de esta, proteína de fusión o composición farmacéutica que comprende dicho polipéptido aislado o proteína de fusión en el tratamiento o prevención de la osteoartritis. En otro aspecto, la divulgación se refiere a un polipéptido aislado que comprende una proteína p75NTR o porción de esta, proteína de fusión o composición farmacéutica que comprende dicho polipéptido aislado o proteína de fusión en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de la osteoartritis. La invención se refiere además a un método de tratamiento de la osteoartritis en un sujeto que comprende una cantidad eficaz de un polipéptido aislado que comprende una proteína p75NTR o porción de esta, proteína de fusión o composición farmacéutica que comprende dicho polipéptido aislado o proteína de fusión a dicho sujeto. La invención se refiere además a un polipéptido aislado que comprende una proteína p75NTR o porción de esta, proteína de fusión o composición farmacéutica que

comprende dicho polipéptido aislado o proteína de fusión para usar en el tratamiento o prevención de la osteoartritis.

[0176] El "sujeto" o "paciente" en el receptor del método, uso o proteína p75NTR o una porción de esta o composición que comprende dicha proteína p75NTR o una porción de esta para el tratamiento de la osteoartritis se refiere a un humano o animal que es objeto de tratamiento, observación o experimento, convenientemente un humano o un animal de compañía, como un canino o un felino. Otros animales que pueden ser adecuados para el tratamiento son, entre otros, la vaca, cerdo, caballo y camello.

[0177] La proteína p75NTR o una porción de esta se refiere a una proteína p75NTR o una porción de esta adecuada para su administración a dicho sujeto. Preferiblemente, la proteína p75NTR o una porción de esta se obtiene de la misma especie que el sujeto que recibe la proteína p75NTR o una porción de esta o la composición que comprende dicha proteína p75NTR o una porción de esta.

[0178] En una modalidad, la proteína p75NTR o una parte de esta es para el tratamiento de un animal como un gato, perro, cerdo, vaca, caballo o camello. En una modalidad, el animal de compañía es un perro. En una modalidad, el animal de compañía es un gato. En una modalidad, la proteína p75NTR o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar en el tratamiento de la osteoartritis comprende una proteína p75NTR canina como la SEQ ID NO. 1. En una modalidad, la proteína p75NTR o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar en el tratamiento de la osteoartritis comprende una proteína p75NTR felina como la SEQ ID NO. 3. En una modalidad, la proteína p75NTR o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar en el tratamiento de la osteoartritis comprende una proteína p75NTR bovina como la SEQ ID NO: 36. En una modalidad, la proteína p75NTR o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar en el tratamiento de la osteoartritis comprende una proteína p75NTR camélida como la SEQ ID NO: 99. En una modalidad, la proteína p75NTR o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar en el tratamiento de la osteoartritis comprende una proteína p75NTR porcina como la SEQ ID NO: 108. n una modalidad, la proteína p75NTR o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar en el tratamiento de la osteoartritis comprende una proteína p75NTR equina como la SEQ ID NO: 5. En una modalidad, la proteína p75NTR o una porción de esta es para el tratamiento de un humano y la proteína p75NTR o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar en el tratamiento de la osteoartritis comprende una proteína p75NTR humana como la SEQ ID NO: 71.

[0179] En una modalidad, la proteína p75NTR o una porción de esta para usar en el tratamiento de la osteoartritis comprende el dominio extracelular o parte de este. En una modalidad, el tratamiento es para un perro y el dominio extracelular p75NTR comprende SEQ ID NO. 7. Como se describe en este documento, puede utilizarse una parte del dominio extracelular, por ejemplo, SEQ ID NO: 34. En una modalidad, el tratamiento es para un gato y el dominio extracelular p75NTR comprende SEQ ID NO. 38. En una modalidad, el tratamiento es para un humano y el dominio extracelular p75NTR comprende SEQ ID NO: 73. En una modalidad, el dominio extracelular p75NTR comprende un dominio extracelular p75NTR camélido como SEQ ID NO: 101. En una modalidad, el dominio extracelular p75NTR comprende un dominio extracelular p75NTR porcino como SEQ ID NO: 110. En una modalidad, el dominio extracelular p75NTR comprende un dominio extracelular p75NTR equino como SEQ ID NO: 118. En una modalidad, el dominio extracelular p75NTR comprende un dominio extracelular p75NTR bovino como SEQ ID NO: 125. En una modalidad, la proteína p75NTR o porción de esta puede comprender cualquiera de las proteínas p75NTR variantes, proteínas de fusión o composiciones farmacéuticas descritas anteriormente en este

documento.

[0180] La proteína p75NTR o porción de esta para usar en el tratamiento de la osteoartritis puede proporcionarse como una proteína de fusión. La proteína de fusión comprende un dominio extracelular p75NTR aislado de animal de compañía o una porción de este y un resto de extensión de semivida. Por ejemplo, el dominio extracelular p75NTR de la SEQ ID NO: 7, 38, 73, 101, 110, 118 o 125 puede unirse a un resto de extensión de semivida. En este documento se describen restos de extensión de semivida adecuadas que pueden utilizarse en la proteína de fusión, por ejemplo, un dominio Fc, un aglutinante de albúmina sérica o PEG.

[0181] En modalidades donde una proteína de fusión que comprende un dominio Fc se utiliza en el tratamiento de la osteoartritis, el dominio Fc y el dominio extracelular p75NTR o una porción de este y el dominio Fc están unidos con un enlazador. En una modalidad, el enlazador es un enlazador peptídico, por ejemplo, el enlazador peptídico es (GGGG)n o (G4S)n, en donde n es de 1 a 4.

[0182] En una modalidad, la proteína de fusión para usar en el tratamiento de la osteoartritis comprende un dominio extracelular canino, por ejemplo, SEQ ID NO: 7 o una porción de esta, por ejemplo, SEQ ID NO: 34. La porción del dominio extracelular canino en la SEQ ID NO: 34 comprende el ECD canino sin pedúnculo y sin escisión de alfa y gamma secretasa 3' de la región peduncular.

[0183] El dominio Fc presente en la proteína de fusión puede ser un dominio Fc canino. En algunas modalidades, la proteína de fusión para usar en el tratamiento de la osteoartritis comprende la SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 13. En algunas modalidades, la proteína de fusión para usar en el tratamiento de la osteoartritis comprende la SEQ ID NO: 11. En algunas modalidades, la proteína de fusión para usar en el tratamiento de la osteoartritis comprende una variante de p75NTR ECD canino con un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134, como se describe en este documento, por ejemplo, la proteína de fusión puede comprender o consistir en la SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:56 o SEQ ID NO:59. En algunas modalidades, la proteína de fusión puede comprender la SEQ ID NO: 47 o SEQ ID NO: 59.

[0184] El dominio Fc presente en la proteína de fusión puede ser un dominio Fc felino. En una modalidad ilustrativa, la proteína de fusión para usar en el tratamiento de la osteoartritis comprende la SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 42 o SEQ ID NO: 44. En algunas modalidades, la proteína de fusión para usar en el tratamiento de la osteoartritis comprende la SEQ ID NO: 42. En algunas modalidades, la proteína de fusión para usar en el tratamiento de la osteoartritis comprende una variante de p75NTR ECD felino con un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134, como se describe en este documento, por ejemplo, la proteína de fusión puede comprender o consistir en la SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:68 o SEQ ID NO:70. En algunas modalidades, la proteína de fusión puede comprender la SEQ ID NO: 62 o SEQ ID NO: 70.

[0185] El dominio Fc presente en la proteína de fusión puede ser un dominio Fc humano. En una modalidad ilustrativa, la proteína de fusión para usar en el tratamiento de la osteoartritis comprende la SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82 o SEQ ID NO: 83. En algunas modalidades, la proteína de fusión para usar en el tratamiento de la osteoartritis comprende una variante de p75NTR ECD felino con un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134, como se describe en este documento, por ejemplo, la proteína de fusión puede comprender o consistir en la SEQ ID NO:85, SEQ ID NO:88, SEQ ID NO:91, SEQ ID NO:94 o SEQ ID NO:97. En algunas modalidades, la proteína de fusión puede comprender la SEQ ID NO: 85 o SEQ ID NO: 97.

[0186] La moléculas p75NTR para usar en el tratamiento de la osteoartritis pueden unirse al

pro-NGF y/o al NGF. En el tratamiento de la osteoartritis puede ser ventajoso utilizar una molécula que se una preferentemente al pro-NGF sobre el NGF. Como se muestra en este documento en los Ejemplos, el p75NTR que comprende un aminoácido variante en la posición 75 puede unirse preferentemente al pro-NGF sobre el NGF. En una modalidad, el polipéptido aislado que comprende una proteína p75NTR o una porción de esta, la proteína de fusión, para usar en el tratamiento de la osteoartritis, comprende un aminoácido variante en la posición 75.

[0187] El tratamiento de la osteoartritis puede medirse por un número de factores, por ejemplo, el tratamiento de la osteoartritis puede comprender la ralentización o detención de la progresión de la enfermedad, la inversión de la progresión de la enfermedad, el recrecimiento del cartílago y/o el tratamiento curativo. En algunas modalidades, el tratamiento de la osteoartritis se determina por la tasa de pérdida o recrecimiento de cartílago.

[0188] En una modalidad, el tratamiento de la osteoartritis comprende un tratamiento profiláctico. El tratamiento profiláctico puede comprender un tratamiento preventivo para evitar la aparición de la enfermedad. Como tal, el tratamiento puede ser proporcionado a un sujeto antes de la aparición de los síntomas.

[0189] En una modalidad, el tratamiento de la osteoartritis comprende la administración de un segundo compuesto. Los compuestos terapéuticos adicionales adecuados se describen anteriormente en este documento.

[0190] En una modalidad, el tratamiento de la osteoartritis comprende además el tratamiento de uno o más trastornos relacionados con el NGF en un animal de compañía. En una modalidad, la administración de la proteína p75NTR, porción de esta o proteína de fusión resulta en el tratamiento tanto de la osteoartritis como de uno o más trastornos relacionados con el NGF. Ventajosamente, las moléculas descritas en este documento han demostrado tener tanto actividad modificadora de la osteoartritis como actividad antiinflamatoria. En una modalidad, el uno o más trastornos relacionados con NGF son enfermedades cardiovasculares, aterosclerosis, obesidad, diabetes tipo 2, síndrome metabólico, dolor e inflamación. En una modalidad, el trastorno relacionado con el NGF es un trastorno relacionado con el dolor. En una modalidad, el dolor se selecciona de dolor de osteoartritis, dolor de artritis reumatoide, dolor quirúrgico y posquirúrgico, dolor incisional, dolor inflamatorio general, dolor de cáncer, dolor de trauma, dolor neuropático, neuralgia, dolor de neuropatía diabética, dolor asociado con enfermedades reumáticas, dolor asociado con enfermedades musculoesqueléticas, dolor visceral y dolor gastrointestinal.

[0191] Por consiguiente, las moléculas de la invención pueden utilizarse ventajosamente para tratar tanto la osteoartritis como para proporcionar un efecto analgésico. De forma similar, las moléculas de la invención pueden utilizarse ventajosamente para tratar tanto la inflamación como para proporcionar un efecto analgésico. Esto es ventajoso ya que los sujetos con osteoartritis o inflamación también pueden sufrir dolor. Las moléculas adecuadas pueden incluir la SEQ ID NO: 11 como se demuestra en los Ejemplos 11 y 12, así como moléculas de menor afinidad como la SEQ ID NO:47 o SEQ ID NO:59 para el tratamiento de perros. De forma similar, las moléculas adecuadas pueden incluir la SEQ ID NO: y 42, así como moléculas de menor afinidad como la SEQ ID NO:62 o SEQ ID NO:70 para el tratamiento de gatos.

[0192] En una modalidad, el tratamiento de la osteoartritis también comprende el tratamiento de un trastorno relacionado con el NGF, tal como una inflamación. En una modalidad, la inflamación es una enfermedad, afección o síntoma inflamatorio. En una modalidad, la enfermedad, afección o síntoma inflamatorio se selecciona del grupo que consiste en insuficiencia o disfunción orgánica única o múltiple, sepsis, tormenta de citocinas, fiebre,

disfunción o deterioro neurológico, pérdida del gusto o del olfato, disfunción cardíaca, disfunción pulmonar, disfunción hepática, disfunción respiratoria aguda o crónica, enfermedad de injerto contra huésped (GVHD), cardiomiopatía, vasculitis, fibrosis, inflamación oftálmica, inflamación dermatológica, inflamación gastrointestinal, tendinopatías, alergia, asma, glomerulonefritis, pancreatitis, hepatitis, esteatohepatitis no alcohólica (NASH), artritis inflamatoria, gota, esclerosis múltiple, psoriasis, síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS), úlceras diabéticas, heridas que no cicatrizan, lupus, enfermedades autoinmunitarias asociadas a inflamación aguda o crónica, e inflamación aguda o crónica asociada a infección vírica, bacteriana o fúngica, hinchazón, sensibilidad, rigidez articular o disminución de la movilidad articular. En una modalidad, la inflamación es sistémica. En una modalidad, la inflamación es local.

Métodos adicionales y Kits

[0193] La invención también proporciona un método *in vitro*, *ex vivo* o *in vivo* para inhibir la actividad de NGF en un sujeto que comprende administrar el polipéptido aislado que comprende un dominio extracelular del receptor de neurotrofina p75 (p75NTR), que comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134 dentro de dicho p75NTR, proteína de fusión o composición farmacéutica de la invención. En uno o más aspectos, la presente invención proporciona un método de producción de la proteína de fusión de la invención cultivando la célula hospedadora de la invención en condiciones que dan lugar a la producción de la proteína de fusión y aislando posteriormente la proteína de fusión de la célula hospedadora o del medio de cultivo de la célula hospedadora.

[0194] En otro aspecto, la invención proporciona un kit para el tratamiento o prevención de una enfermedad, diagnóstico, prognosis o control de la enfermedad que comprende el polipéptido aislado que comprende un dominio extracelular del receptor de neurotrofina p75 (p75NTR), que comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134 en dicho p75NTR, proteína de fusión o composición farmacéutica de la invención. Dicho kit puede contener otros componentes, envases y/o instrucciones.

[0195] La invención en otro aspecto proporciona un polipéptido aislado que comprende un dominio extracelular del receptor de neurotrofina p75 (p75NTR), que comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134 dentro de dicho p75NTR, proteína de fusión o composición farmacéutica de la invención envasado en forma liofilizada o envasado en un medio acuoso.

[0196] En otro aspecto, el polipéptido aislado que comprende un dominio extracelular del receptor de neurotrofina p75 (p75NTR), que comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134 dentro de dicho p75NTR, la proteína de fusión o composición farmacéutica de la invención como se describe en este documento se usa para fines no terapéuticos, tal como pruebas o ensayos de diagnóstico. Así, la presente invención también proporciona las proteínas p75NTR y proteínas de fusión anteriores para usar en métodos de diagnóstico para detectar NGF en un sujeto, en particular, un sujeto humano, canino o felino, pero sin limitarse a ellos, que se sabe o se sospecha que tiene un trastorno relacionado con NGF. Los métodos para detectar el NGF en un sujeto del que se sabe o se sospecha que padece un trastorno relacionado con el NGF pueden incluir la exposición de una muestra del sujeto a una proteína marcada de la invención y la detección de dicha proteína marcada. Puede usarse un método de diagnóstico para detectar cuantitativa o cualitativamente el NGF en una muestra o para detectar la presencia de células que expresan el NGF.

[0197] Otros aspectos y modalidades de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica dada la presente divulgación, incluida la siguiente ejemplificación experimental. **[0198]**

A menos que se defina lo contrario en este documento, los términos científicos y técnicos que se usan en relación con la presente descripción tendrán los significados que normalmente entienden los expertos en la técnica. Si bien la divulgación anterior proporciona una descripción general de la materia abarcada dentro del alcance de la presente invención, incluidos métodos, así como el mejor modo de estos, de hacer y utilizar esta invención, los siguientes ejemplos se proporcionan para permitir aún más a los expertos en la técnica practicar esta invención y proporcionar una descripción escrita completa de esta. Sin embargo, los expertos en la técnica apreciarán que los detalles de estos ejemplos no deben interpretarse como limitativos de la invención, cuyo alcance debe comprenderse a partir de las reivindicaciones y equivalentes de estas que se adjuntan a la presente divulgación. Varios aspectos y modalidades adicionales de la presente invención serán evidentes para los expertos en la técnica en vista de la presente divulgación.

[0199] Todos los documentos mencionados en esta memoria descriptiva se incorporan en este documento por referencia en su totalidad, incluida cualquier referencia a números de acceso a genes y referencias a publicaciones de patentes.

[0200] “y/o”, cuando se usa en este documento, se debe considerar una divulgación específica de los dos rasgos o componentes especificados con o sin el otro. Por ejemplo, "A y/o B" debe tomarse como una divulgación específica de cada uno de (i) A, (ii) B y (iii) A y B, tal como si cada uno se estableciera individualmente en este documento. A menos que el contexto indique lo contrario, las descripciones y definiciones de las características expuestas anteriormente no se limitan a ningún aspecto o modalidad particular de la invención y se aplican igualmente a todos los aspectos y modalidades que se describen.

Cláusulas numeradas

1. Un polipéptido aislado que comprende un dominio extracelular del receptor de neurotrofina p75 (p75NTR), en donde dicho p75NTR comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134.
2. El polipéptido aislado según la cláusula 1, en donde el aminoácido variante en la posición 75 de p75NTR comprende una cadena lateral polar.
3. El polipéptido aislado según cualquier cláusula precedente, en donde el aminoácido variante en la posición 75 de p75NTR se selecciona de serina, treonina, tirosina, triptófano, asparagina, glutamina o cisteína, preferentemente treonina.
4. El polipéptido aislado según cualquier cláusula precedente, en donde el aminoácido variante en la posición 109 de p75NTR comprende una cadena lateral aromática.
5. El polipéptido aislado según cualquier cláusula precedente, en donde el aminoácido variante en la posición 109 de p75NTR se selecciona de histidina, tirosina, fenilalanina o triptófano.
6. El polipéptido aislado según cualquier cláusula precedente, en donde el aminoácido variante en la posición 133 de p75NTR comprende una cadena lateral cargada.
7. El polipéptido aislado según cualquier cláusula precedente, en donde el aminoácido variante en la posición 133 de p75NTR se selecciona de arginina, histidina, lisina, ácido aspártico o ácido glutámico.
8. El polipéptido aislado según cualquiera de las cláusulas 1 a 6, en donde el aminoácido variante en la posición 133 de p75NTR comprende una cadena lateral cargada negativamente.
9. El polipéptido aislado según la cláusula 8, en donde el aminoácido variante en la posición 133 de p75NTR se selecciona de arginina, histidina, o lisina, preferentemente arginina.
10. El polipéptido aislado según cualquier cláusula precedente, en donde el

aminoácido variante en la posición 134 de p75NTR comprende una cadena lateral hidrófoba.

11. El polipéptido aislado según cualquier cláusula precedente, en donde el aminoácido variante en la posición 134 de p75NTR se selecciona de alanina, valina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, tirosina, o triptófano.

12. El polipéptido aislado según cualquiera de las cláusulas 1 a 10, en donde el aminoácido variante en la posición 134 de p75NTR comprende una cadena lateral hidrófoba no aromática.

13. El polipéptido aislado según la cláusula 12, en donde el aminoácido variante en la posición 134 de p75NTR se selecciona de alanina, valina, isoleucina, leucina o metionina, preferentemente leucina.

14. El polipéptido aislado según cualquier cláusula precedente, en donde el animal de compañía es un gato, perro, cerdo, vaca, caballo o camello.

15. El polipéptido aislado según cualquier cláusula precedente, en donde el animal de compañía es un perro y el p75NTR comprende o consiste en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:55 o SEQ ID NO:58.

16. El polipéptido aislado según cualquiera de las cláusulas 1 a 14, en donde el animal de compañía es un gato y el p75NTR comprende o consiste en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:67 o SEQ ID NO:69.

17. El polipéptido aislado según cualquiera de las cláusulas 1 a 14, en donde el animal de compañía es un gato y el p75NTR comprende o consiste en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115 o SEQ ID NO: 116; en donde el animal de compañía es un caballo y el p75NTR comprende o consiste en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123 o SEQ ID NO: 124; en donde el animal de compañía es una vaca y el p75NTR comprende o consiste en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130 o SEQ ID NO: 131; o en donde el animal de compañía es un camello y el p75NTR comprende o consiste en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 106 o SEQ ID NO: 107.

18. El polipéptido aislado según una cláusula precedente, en donde el dominio extracelular p75NTR está truncado.

19. Un ácido nucleico aislado que codifica el polipéptido aislado según una cláusula precedente.

20. Un vector que comprende un ácido nucleico según la cláusula 19.

21. Una célula hospedadora que comprende un ácido nucleico según la cláusula 19 o un vector según la cláusula 20.

22. Una proteína de fusión que comprende un dominio extracelular p75NTR de animal de compañía, en donde dicho p75NTR comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134, y un resto de extensión de semivida.

23. La proteína de fusión según la cláusula 22, en donde el resto de extensión de semivida se selecciona de un dominio Fc, un aglutinante de albúmina sérica o PEG.

24. La proteína de fusión según la cláusula 22, en donde el resto de extensión de semivida es un dominio Fc de tipo natural o mutante.

25. La proteína de fusión según cualquiera de las cláusulas 22 a 24, en donde el resto de extensión de semivida es un dominio Fc y el dominio extracelular p75NTR o una porción de este y el dominio Fc están unidos con un enlazador.

26. La proteína de fusión según la cláusula 25, en donde el enlazador es un enlazador peptídico.

27. La proteína de fusión según la cláusula 26, en donde el enlazador peptídico es $(G_4S)_n$, en donde n es de 1 a 4.
28. La proteína de fusión según cualquiera de las cláusulas 22 a 27, en donde el animal de compañía es un gato, perro, cerdo, vaca, caballo o camello.
29. La proteína de fusión según cualquiera de las cláusulas 22 a 28, en donde el dominio Fc es un dominio Fc canino.
30. La proteína de fusión según la cláusula 29, en donde la proteína de fusión comprende o consiste en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:56 o SEQ ID NO:59.
31. La proteína de fusión según cualquiera de las cláusulas 22 a 28, en donde el dominio Fc es un dominio Fc felino.
32. La proteína de fusión según la cláusula 31, en donde la proteína de fusión comprende o consiste en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:68 o SEQ ID NO:70.
33. Un ácido nucleico que codifica una proteína de fusión según cualquiera de las cláusulas 22 a 32.
34. Un vector que comprende un ácido nucleico según la cláusula 33.
35. Una célula hospedadora que comprende un ácido nucleico según la cláusula 33 o un vector según la cláusula 34.
36. Una composición farmacéutica que comprende un polipéptido aislado según cualquiera de las cláusulas 1 a 18, o una proteína de fusión según cualquiera de las cláusulas 22 a 32.
37. Un método para tratar un trastorno relacionado con NGF en un animal de compañía que comprende administrar una proteína p75NTR aislada de animal de compañía según cualquiera de las cláusulas 1 a 18, una proteína de fusión según cualquiera de las cláusulas 22 a 32 o una composición farmacéutica de la cláusula 36.
38. El uso de una proteína p75NTR aislada de animal de compañía según cualquiera de las modalidades 1 a 18, una proteína de fusión según cualquiera de las cláusulas 22 a 32 o una composición farmacéutica de la modalidad 36 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno relacionado con NGF en un animal de compañía.
39. Una proteína p75NTR aislada de animal de compañía según cualquiera de las modalidades 1 a 18, o una proteína de fusión según cualquiera de las cláusulas 22 a 32 para usar en el tratamiento de un trastorno relacionado con NGF en un animal de compañía.
40. El método de la cláusula 37 o el uso de la cláusula 38 o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una proteína de fusión para usar según la cláusula 39, en donde el trastorno relacionado con el NGF son enfermedades cardiovasculares, aterosclerosis, obesidad, diabetes de tipo 2, síndrome metabólico, dolor e inflamación.
41. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía para usar según la cláusula 40, en donde el trastorno relacionado con el NGF es un trastorno relacionado con el dolor.
42. El método, uso o la proteína p 75NTR de animal de compañía para usar según la cláusula 41, en donde el dolor se selecciona de osteoartritis, dolor de artritis reumatoide, dolor quirúrgico y posquirúrgico, dolor incisional, dolor inflamatorio general, dolor de cáncer, dolor de trauma, dolor neuropático, neuralgia, dolor de neuropatía diabética, dolor asociado con enfermedades reumáticas, dolor asociado con enfermedades musculoesqueléticas, dolor visceral y dolor gastrointestinal.
43. El método o uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía para usar

según la cláusula 40, en donde el trastorno relacionado con NGF es inflamación, en donde la inflamación es una enfermedad, afección o síntoma inflamatorio, opcionalmente en donde la enfermedad, afección o síntoma inflamatorio se selecciona del grupo que consiste en insuficiencia o disfunción orgánica única o múltiple, sepsis, tormenta de citocinas, fiebre, disfunción o deterioro neurológico, pérdida del gusto o del olfato, disfunción cardíaca, disfunción pulmonar, disfunción hepática, disfunción respiratoria aguda o crónica, enfermedad de injerto contra huésped (GVHD), cardiomiopatía, vasculitis, fibrosis, inflamación oftálmica, inflamación dermatológica, inflamación gastrointestinal, tendinopatías, alergia, asma, glomerulonefritis, pancreatitis, hepatitis, esteatohepatitis no alcohólica (NASH), artritis inflamatoria, gota, esclerosis múltiple, psoriasis, síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS), úlceras diabéticas, heridas que no cicatrizan, lupus, enfermedades autoinmunitarias asociadas a inflamación aguda o crónica, e inflamación aguda o crónica asociada a infección vírica, bacteriana o fúngica, hinchazón, sensibilidad, rigidez articular o disminución de la movilidad articular.

44. Un método para inhibir la actividad de NGF en un animal de compañía que comprende administrar una proteína p75NTR aislada de animal de compañía según cualquiera de las cláusulas 1 a 18, una proteína de fusión según cualquiera de las cláusulas 22 a 32 o una composición farmacéutica de la cláusula 36.

45. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía de cualquiera de las cláusulas 41 a 43 o el método de la cláusula 44 que comprende la administración de un segundo compuesto que trata el dolor.

46. Un kit que comprende una proteína p75NTR aislada de animal de compañía según cualquiera de las cláusulas 1 a 18, una proteína de fusión según cualquiera de las cláusulas 22 a 32 o una composición farmacéutica de la cláusula 36 y opcionalmente instrucciones para su uso.

47. Un método para tratar la osteoartritis en un animal de compañía que comprende administrar una cantidad eficaz de una proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta, o una composición farmacéutica que comprende dicha proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta.

48. El uso de una proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta, o una composición farmacéutica que comprende dicha proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la osteoartritis en un animal de compañía.

49. Una proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta, o una composición farmacéutica que comprende dicha proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta para usar en el tratamiento de la osteoartritis en un animal de compañía.

50. El método según la cláusula 47 o el uso según la cláusula 48 o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la cláusula 49, en donde el animal de compañía es un gato, perro, cerdo, vaca, caballo o camello.

51. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la cláusula 50, en donde la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta comprende una de la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 108.

52. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las cláusulas 47

a 51, en donde la proteína p75NTR o una porción de esta comprende el dominio extracelular o parte de este.

53. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la cláusula 52, en donde el dominio extracelular de p75NTR comprende una de la SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO:110, SEQ ID NO: 118 o SEQ ID NO: 125.

54. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las cláusulas 47 a 53, en donde dicha p75NTR comprende una variante de aminoácido en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134.

55. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la cláusula 54, en donde la variante de aminoácido en la posición 75 de p75NTR comprende una cadena lateral polar.

56. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las cláusulas 54 a 55, en donde la variante de aminoácido en la posición 75 de p75NTR se selecciona de serina, treonina, tirosina, triptófano, asparagina, glutamina o cisteína, preferentemente treonina.

57. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las cláusulas 54 a 56, en donde la variante de aminoácido en la posición 109 de p75NTR comprende una cadena lateral aromática.

58. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las cláusulas 54 a 57, en donde la variante de aminoácido en la posición 109 de p75NTR se selecciona de histidina, tirosina, fenilalanina o triptófano.

59. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las cláusulas 54 a 58, en donde la variante de aminoácido en la posición 133 de p75NTR comprende una cadena lateral cargada.

60. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las cláusulas 54 a 59, en donde la variante de aminoácido en la posición 133 de p75NTR se selecciona de arginina, histidina, lisina, ácido aspártico o ácido glutámico.

61. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las cláusulas 54 a 60, en donde la variante de aminoácido en la posición 133 de p75NTR comprende una cadena lateral cargada negativamente.

62. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la cláusula 61, en donde la variante de aminoácido en la posición 133 de p75NTR se selecciona de arginina, histidina o lisina, preferiblemente arginina.

63. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las cláusulas 54 a 62, en donde la variante de aminoácido en la posición 134 de p75NTR comprende una cadena lateral hidrofóbica.

64. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las cláusulas 54

a 63, en donde la variante de aminoácido en la posición 134 de p75NTR se selecciona de alanina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, tirosina o triptófano.

65. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las cláusulas 54 a 64, en donde la variante de aminoácido en la posición 134 de p75NTR comprende una cadena lateral hidrofóbica no aromática.

66. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la cláusula 65, en donde la variante de aminoácido en la posición 134 de p75NTR se selecciona de alanina, valina, isoleucina o metionina, preferiblemente leucina.

67. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las cláusulas 54 a 66, en donde el animal de compañía es un gato, perro, cerdo, vaca, caballo o camello.

68. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las cláusulas 54 a 67, en donde el animal de compañía es un perro y el p75NTR comprende o consiste en una secuencia seleccionada de la SEQ ID NO: 46, SEQ ID No. SEQ ID NO: 49, SEQ ID No. SEQ ID NO: 52, SEQ ID No. SEQ ID NO: 55 o SEQ ID No. SEQ ID NO: 58.

69. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las cláusulas 54 a 67, en donde el animal de compañía es un gato y el p75NTR comprende o consiste en una secuencia seleccionada de la SEQ ID NO: 61, SEQ ID No. SEQ ID NO: 63, SEQ ID No. SEQ ID NO: 65, SEQ ID No. SEQ ID NO: 67 o SEQ ID No. SEQ ID NO: 69.

70. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las cláusulas 54 a 69, en donde el dominio extracelular de p75NTR está truncado.

71. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las cláusulas 47 a 70, en donde la proteína p75NTR aislada de animal de compañía se proporciona como una proteína de fusión que comprende dicho dominio extracelular de p75NTR aislado de animal de compañía o porción de este y un resto de extensión de semivida.

72. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la cláusula 71, en donde el resto de extensión de semivida se selecciona de un dominio Fc, un aglutinante de albúmina sérica o PEG.

73. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la cláusula 72, en donde el resto de extensión de semivida es un dominio Fc de tipo natural o mutante.

74. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las cláusulas 71 a 73, en donde el resto de extensión de semivida es un dominio Fc y el dominio extracelular p75NTR o una porción de este y el dominio Fc están unidos con un enlazador.

75. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la cláusula 74, en donde el enlazador es un enlazador peptídico.

76. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la cláusula 75, en donde el enlazador peptídico es (GGGG)n o (G4S)n, en donde n es 1 a 4.

77. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica según cualquiera de las cláusulas 71 a 76, en donde la proteína de fusión comprende una de SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:70.

78. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las cláusulas 47 a 77, en donde dicho tratamiento de la osteoartritis comprende la ralentización o detención de la progresión de la enfermedad, la inversión de la progresión de la enfermedad, el recrecimiento del cartílago y/o el tratamiento curativo.

79. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la cláusula 78, en donde dicho tratamiento se determina por la tasa de pérdida o recrecimiento de cartílago.

80. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las cláusulas 47 a 79, en donde dicho tratamiento de la osteoartritis comprende además el tratamiento de uno o más trastornos relacionados con NGF en un animal de compañía.

81. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la cláusula 80, en donde el uno o más trastornos relacionados con NGF son enfermedades cardiovasculares, aterosclerosis, obesidad, diabetes de tipo 2, síndrome metabólico, dolor e inflamación.

82. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la cláusula 81, en donde el trastorno relacionado con NGF es un trastorno relacionado con el dolor.

83. El método, uso o la proteína p75NTR de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la cláusula 82, en donde el dolor se selecciona de osteoartritis, dolor de artritis reumatoide, dolor quirúrgico y posquirúrgico, dolor incisional, dolor inflamatorio general, dolor de cáncer, dolor de trauma, dolor neuropático, neuralgia, dolor de neuropatía diabética, dolor asociado con enfermedades reumáticas, dolor asociado con enfermedades musculoesqueléticas, dolor visceral y dolor gastrointestinal.

84. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la cláusula 81, en donde el trastorno relacionado con NGF es inflamación, en donde la inflamación es una enfermedad, afección o síntoma inflamatorio.

85. El método o uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la cláusula 84, en donde la enfermedad, afección o síntoma se selecciona del grupo que consiste en insuficiencia o disfunción orgánica única o múltiple, sepsis, tormenta de citocinas, fiebre, disfunción o deterioro neurológico, pérdida del gusto o del olfato, disfunción cardíaca, disfunción pulmonar, disfunción hepática, disfunción respiratoria aguda o crónica, enfermedad de injerto contra huésped (GVHD), cardiomiopatía, vasculitis, fibrosis, inflamación oftálmica, inflamación dermatológica, inflamación gastrointestinal, tendinopatías, alergia, asma, glomerulonefritis, pancreatitis, hepatitis, esteatohepatitis no alcohólica (NASH), artritis inflamatoria, gota, esclerosis múltiple, psoriasis, síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS), úlceras diabéticas, heridas que no cicatrizan, lupus, enfermedades autoinmunitarias asociadas a inflamación aguda o crónica, e inflamación aguda o crónica asociada a infección vírica, bacteriana o fúngica, hinchazón, sensibilidad, rigidez articular o disminución de la movilidad articular.

86. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las cláusulas 47 a 85, en donde dicho tratamiento comprende tratamiento profiláctico.

87. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de animal de compañía o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las cláusulas 47 a 86, que comprende la administración de un segundo compuesto.

Modalidades numeradas

1. Un polipéptido aislado que comprende un dominio extracelular del receptor de neurotrofina p75 (p75NTR) humano, en donde dicho p75NTR comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134.

2. El polipéptido aislado según la modalidad 1, en donde el aminoácido variante en la posición 75 de p75NTR comprende una cadena lateral polar.

3. El polipéptido aislado según cualquier modalidad precedente, en donde el aminoácido variante en la posición 75 de p75NTR se selecciona de serina, treonina, tirosina, triptófano, asparagina, glutamina o cisteína, preferentemente treonina.

4. El polipéptido aislado según cualquier modalidad precedente, en donde el aminoácido variante en la posición 109 de p75NTR comprende una cadena lateral aromática.

5. El polipéptido aislado según cualquier modalidad precedente, en donde el aminoácido variante en la posición 109 de p75NTR se selecciona de histidina, tirosina, fenilalanina o triptófano.

6. El polipéptido aislado según cualquier modalidad precedente, en donde el aminoácido variante en la posición 133 de p75NTR comprende una cadena lateral cargada.

7. El polipéptido aislado según cualquier modalidad precedente, en donde el aminoácido variante en la posición 133 de p75NTR se selecciona de arginina, histidina, lisina, ácido aspártico o ácido glutámico.

8. El polipéptido aislado según cualquiera de las modalidades 1 a 6, en donde el aminoácido variante en la posición 133 de p75NTR comprende una cadena lateral cargada negativamente.

9. El polipéptido aislado según la modalidad 8, en donde el aminoácido variante en la posición 133 de p75NTR se selecciona de arginina, histidina, o lisina, preferentemente arginina.

10. El polipéptido aislado según cualquier modalidad precedente, en donde el aminoácido variante en la posición 134 de p75NTR comprende una cadena lateral hidrófoba.

11. El polipéptido aislado según cualquier modalidad precedente, en donde el aminoácido variante en la posición 134 de p75NTR se selecciona de alanina, valina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, tirosina, o triptófano.

12. El polipéptido aislado según cualquiera de las modalidades 1 a 10, en donde el aminoácido variante en la posición 134 de p75NTR comprende una cadena lateral hidrófoba no aromática.

13. El polipéptido aislado según la modalidad 12, en donde el aminoácido variante en la posición 134 de p75NTR se selecciona de alanina, valina, isoleucina, leucina o metionina, preferiblemente leucina.

14. El polipéptido aislado según cualquier modalidad precedente, en donde el p75NTR comprende o consiste en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO:93 o SEQ ID NO: 96.

15. El polipéptido aislado según una modalidad precedente, en donde el dominio extracelular p75NTR está truncado.

16. Un ácido nucleico aislado que codifica el polipéptido aislado según una modalidad precedente.
17. Un vector que comprende un ácido nucleico según la modalidad 16.
18. Una célula hospedadora que comprende un ácido nucleico según la modalidad 16 o un vector según la modalidad 17.
19. Una proteína de fusión que comprende un dominio extracelular p75NTR humano, en donde dicho p75NTR comprende un aminoácido variante en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134, y un resto de extensión de semivida.
20. La proteína de fusión según la modalidad 19, en donde el resto de extensión de semivida se selecciona de un dominio Fc, un aglutinante de albúmina sérica o PEG.
21. La proteína de fusión según la modalidad 19, en donde el resto de extensión de semivida es un dominio Fc de tipo natural o mutante.
22. La proteína de fusión según cualquiera de las modalidades 19 a 21, en donde el resto de extensión de semivida es un dominio Fc y el dominio extracelular p75NTR o una porción de este y el dominio Fc están unidos con un enlazador.
23. La proteína de fusión según la modalidad 22, en donde el enlazador es un enlazador peptídico.
24. La proteína de fusión según la modalidad 23, en donde el enlazador peptídico es $(G_4S)_n$, en donde n es de 1 a 4.
25. La proteína de fusión según cualquiera de las modalidades 19 a 24, en donde el dominio Fc es un dominio Fc humano.
26. La proteína de fusión según la modalidad 25, en donde la proteína de fusión comprende o consiste en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 94 o SEQ ID NO: 97.
27. Un ácido nucleico que codifica una proteína de fusión según cualquiera de las modalidades 19 a 26.
28. Un vector que comprende un ácido nucleico según la modalidad 27.
29. Una célula hospedadora que comprende un ácido nucleico según la modalidad 27 o un vector según la modalidad 28.
30. Una composición farmacéutica que comprende un polipéptido aislado según cualquiera de las modalidades 1 a 15, o una proteína de fusión según cualquiera de las modalidades 19 a 26.
31. Un método para tratar un trastorno relacionado con NGF en un sujeto que comprende administrar una proteína p75NTR humana según cualquiera de las modalidades 1 a 15, una proteína de fusión según cualquiera de las modalidades 19 a 26 o una composición farmacéutica de la modalidad 30.
32. El uso de una proteína p75NTR aislada de humano según cualquiera de las modalidades 1 a 15, una proteína de fusión según cualquiera de las modalidades 19 a 26 o una composición farmacéutica de la modalidad 30 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno relacionado con NGF en un sujeto.
33. La proteína p75NTR aislada de humano según cualquiera de las modalidades 1 a 15, una proteína de fusión según cualquiera de las modalidades 19 a 26 o una composición farmacéutica de la modalidad 30 para usar en el tratamiento de un trastorno relacionado con NGF en un sujeto.
33. El método de la modalidad 31 o el uso de la modalidad 32, en donde el trastorno relacionado con NGF es enfermedades cardiovasculares, aterosclerosis, obesidad, diabetes tipo 2, síndrome metabólico, dolor e inflamación.
34. El método o uso de la modalidad 33, en donde el trastorno relacionado con el

NGF es un trastorno relacionado con el dolor.

35. El método, uso de la modalidad 34, en donde el dolor se selecciona de dolor de osteoartritis, dolor de artritis reumatoide, dolor quirúrgico y posquirúrgico, dolor incisional, dolor inflamatorio general, dolor de cáncer, dolor de trauma, dolor neuropático, neuralgia, dolor de neuropatía diabética, dolor asociado con enfermedades reumáticas, dolor asociado con enfermedades musculoesqueléticas, dolor visceral y dolor gastrointestinal.

36. Un método para inhibir la actividad de NGF en un sujeto, que comprende administrar una proteína p75NTR aislada de humano según cualquiera de las modalidades 1 a 15, una proteína de fusión según cualquiera de las modalidades 19 a 26 o una composición farmacéutica de la modalidad 30.

37. El método o uso de la modalidad 34 o modalidad 35 o el método de la modalidad 36 que comprende la administración de un segundo compuesto que trata el dolor.

38. Un kit que comprende una proteína p75NTR aislada de humano según cualquiera de las modalidades 1 a 15, una proteína de fusión según cualquiera de las modalidades 19 a 26 o una composición farmacéutica de la modalidad 30 y opcionalmente instrucciones para su uso.

39. Un método para tratar la osteoartritis en un humano que comprende administrar una cantidad eficaz de una proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta, o una composición farmacéutica que comprende dicha proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta.

40. El uso de una proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta, o una composición farmacéutica que comprende dicha proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la osteoartritis en un humano.

41. Una proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta, o una composición farmacéutica que comprende dicha proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta para usar en el tratamiento de la osteoartritis en un humano.

42. El método de la modalidad 39, el uso de la modalidad 40, o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la modalidad 41, en donde la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta comprende SEQ ID NO: 71.

43. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las modalidades 39 a 42, en donde la proteína p75NTR o una porción de esta comprende el dominio extracelular o parte de este.

44. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la modalidad 43, en donde el dominio extracelular de p75NTR comprende la SEQ ID NO: 73.

45. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las modalidades 39 a 44, en donde dicha p75NTR comprende una variante de aminoácido en una o más de las posiciones 75, 109, 133 y/o 134.

46. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la modalidad 45, en donde la variante de aminoácido en la posición 75 de p75NTR comprende una cadena lateral polar.

47. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las modalidades 45 a 46, en donde la variante de aminoácido en la posición 75 de p75NTR se selecciona de serina,

treonina, tirosina, triptófano, asparagina, glutamina o cisteína, preferentemente treonina.

48. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las modalidades 45 a 47, en donde la variante de aminoácido en la posición 109 de p75NTR comprende una cadena lateral aromática.

49. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las modalidades 45 a 48, en donde la variante de aminoácido en la posición 109 de p75NTR se selecciona de histidina, tirosina, fenilalanina o triptófano.

50. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las modalidades 45 a 49, en donde la variante de aminoácido en la posición 133 de p75NTR comprende una cadena lateral cargada.

51. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las modalidades 45 a 50, en donde la variante de aminoácido en la posición 133 de p75NTR se selecciona de arginina, histidina, lisina, ácido aspártico o ácido glutámico.

52. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las modalidades 45 a 51, en donde la variante de aminoácido en la posición 133 de p75NTR comprende una cadena lateral cargada negativamente.

53. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la modalidad 52, en donde la variante de aminoácido en la posición 133 de p75NTR se selecciona de arginina, histidina o lisina, preferiblemente arginina.

54. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las modalidades 45 a 53, en donde la variante de aminoácido en la posición 134 de p75NTR comprende una cadena lateral hidrofóbica.

55. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las modalidades 45 a 54, en donde la variante de aminoácido en la posición 134 de p75NTR se selecciona de alanina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, tirosina o triptófano.

56. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las modalidades 45 a 55, en donde la variante de aminoácido en la posición 134 de p75NTR comprende una cadena lateral hidrofóbica no aromática.

57. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la modalidad 56, en donde la variante de aminoácido en la posición 134 de p75NTR se selecciona de alanina, valina, isoleucina o metionina, preferiblemente leucina.

58. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las modalidades 45 a 57, en donde el p75NTR comprende o consiste en una secuencia seleccionada de la SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 93 o SEQ ID NO: 96.

59. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las modalidades 45 a 58, en donde el dominio extracelular de p75NTR está truncado.

60. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las modalidades 39 a 59, en donde la proteína p75NTR aislada de humano se proporciona como una proteína de fusión que comprende dicho dominio extracelular de p75NTR aislado de humano o porción de este y un resto de extensión de semivida.

61. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la modalidad 60, en donde el resto de extensión de semivida se selecciona de un dominio Fc, un aglutinante de albúmina sérica o PEG.

62. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la modalidad 61, en donde el resto de extensión de semivida es un dominio Fc de tipo natural o mutante.

63. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las modalidades 60 a 62, en donde el resto de extensión de semivida es un dominio Fc y el dominio extracelular p75NTR o una porción de este y el dominio Fc están unidos con un enlazador.

64. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la modalidad 63, en donde el enlazador es un enlazador peptídico.

65. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica según la modalidad 64, en donde el enlazador peptídico es (GGGG)n o (G4S)n, en donde n es 1 a 4.

66. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica según las modalidades 60 a 65, en donde la proteína de fusión comprende una de SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:82, SEQ ID NO:83, SEQ ID NO:85, SEQ ID NO:88, SEQ ID NO:91, SEQ ID NO:94, SEQ ID NO: 97.

67. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las modalidades 39 a 66, en donde dicho tratamiento de la osteoartritis comprende la ralentización o detención de la progresión de la enfermedad, la inversión de la progresión de la enfermedad, el recrecimiento del cartílago y/o el tratamiento curativo.

68. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la modalidad 67, en donde dicho tratamiento se determina por la tasa de pérdida o recrecimiento de cartílago.

69. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las modalidades 39 a 68, en donde dicho tratamiento de la osteoartritis comprende además el tratamiento de uno o más trastornos relacionados con NGF en un humano.

70. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la modalidad 69, en donde el uno o más trastornos relacionados con NGF son enfermedades cardiovasculares, aterosclerosis, obesidad, diabetes de tipo 2, síndrome metabólico, dolor e inflamación.

71. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la modalidad 70, en donde el trastorno relacionado con NGF es un trastorno relacionado con el dolor.

72. El método, uso o la proteína p75NTR de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la modalidad 71, en donde el dolor se selecciona de osteoartritis, dolor de artritis reumatoide, dolor quirúrgico y posquirúrgico, dolor incisional,

dolor inflamatorio general, dolor de cáncer, dolor de trauma, dolor neuropático, neuralgia, dolor de neuropatía diabética, dolor asociado con enfermedades reumáticas, dolor asociado con enfermedades musculoesqueléticas, dolor visceral y dolor gastrointestinal.

73. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la modalidad 70, en donde el trastorno relacionado con NGF es inflamación, en donde la inflamación es una enfermedad, afección o síntoma inflamatorio.

74. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según la modalidad 73, en donde la enfermedad, afección o síntoma se selecciona del grupo que consiste en insuficiencia o disfunción orgánica única o múltiple, sepsis, tormenta de citocinas, fiebre, disfunción o deterioro neurológico, pérdida del gusto o del olfato, disfunción cardíaca, disfunción pulmonar, disfunción hepática, disfunción respiratoria aguda o crónica, enfermedad de injerto contra huésped (GVHD), cardiomiopatía, vasculitis, fibrosis, inflamación oftálmica, inflamación dermatológica, inflamación gastrointestinal, tendinopatías, alergia, asma, glomerulonefritis, pancreatitis, hepatitis, esteatohepatitis no alcohólica (NASH), artritis inflamatoria, gota, esclerosis múltiple, psoriasis, síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS), úlceras diabéticas, heridas que no cicatrizan, lupus, enfermedades autoinmunitarias asociadas a inflamación aguda o crónica, e inflamación aguda o crónica asociada a infección vírica, bacteriana o fúngica, hinchazón, sensibilidad, rigidez articular o disminución de la movilidad articular.

75. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las modalidades 39 a 74, en donde dicho tratamiento comprende tratamiento profiláctico.

76. El método, uso o la proteína p75NTR aislada de humano o una porción de esta o la composición farmacéutica para usar según cualquiera de las modalidades 39 a 75, que comprende la administración de un segundo compuesto.

La invención se describe además en los ejemplos no taxativos.

Ejemplos

Ejemplo 1 - Análisis estructural de la interacción p75NTR-NGF.

[0201] Se generó un modelo del dominio extracelular de p75NTR así como de NGF utilizando el servidor de pliegues alfa (estructura cristalina humana utilizada como plantilla - código pdb 3BUK) (Figura 2). Los residuos que interactuaban entre p75NTR y NGF se identificaron mediante cortes de distancia y geometría. Se identificaron mutaciones para mejorar/reducir la unión, así como para mejorar la expresión.

[0202] La Figura 1 muestra la alineación de las secuencias de p75NTR canina, felina, bovina y equina, que muestran una elevada identidad de secuencia entre dichas especies.

[0203] Canino frente a felino: 1/164 (más de 99% de identidad)

[0204] Canino frente a equino: 4/164 (97,6 % de identidad)

[0205] Felino frente a equino: 5/164 (97 % de identidad)

[0206] Canino frente a bovino: 2/164 (98,8 % de identidad)

Ejemplo 2 - Construcciones proteicas y transfección/expresión en CHO-s

[0207] Las secuencias de aminoácidos para las variantes de PetML119 se indican en la sección Secuencias más adelante.

[0208] Para la producción de proteínas, se generaron construcciones de ADN para codificar la proteína de fusión Fc quimérica que comprende regiones constantes IgG caninas seleccionadas (entre bisagra y extremo C) fusionadas con el dominio extracelular de p75 canino que carece de sitios de O-glicosilación y γ-secretasa predichos.

[0209] Se sintetizaron tanto el dominio Fc IgG-B canino como el dominio extracelular p75 (res

31- 194 de UniProtKB - J9PAM0). Ambos genes se amplificaron por PCR con ADN polimerasa de alta fidelidad Q5 (utilizando cebadores específicos que incluían regiones solapadas para permitir el ensamblaje) y se ensamblaron en el vector de expresión de mamíferos PetML119var utilizando NEBuilder HIFI DNA Assembly (New England Biolabs). En el vector de expresión, la cadena de proteína de fusión y las unidades de expresión del gen resistente a antibióticos están flanqueadas por repeticiones invertidas terminales del transposón de ADN *piggyBac* para mediar la integración estable en las células hospedadoras en presencia de la transposasa piggyBac. A continuación, el vector de expresión se transfectó en una línea celular de mamífero adecuada, como las células CHO, junto con la transposasa PiggyBac para obtener una expresión estable. Para la producción de la proteína de fusión, se sembraron 1×10^6/mL de células CHO seleccionadas en 800 mL de medio de cultivo (F17 + 4mM 1-Gln + 0,3%P188 + 1:500 ACA) y se incuban a 32°C, 8% CO_2 con agitación a 130 rpm. A partir del 4.º día de sobreproducción, se añade diariamente a los medios un suplemento del 2% de HyClone Cell Boost 7a + un suplemento del 0,2% de HyClone Cell Boost 7b 2mM de glucosa. Los sobrenadantes del cultivo se recogen el día 10 y se determina la concentración de proteína mediante resonancia de plasmón superficial utilizando un chip de proteína A (Biacore 8K, Cytiva Life Sciences).

[0210] Típicamente, PetML119var mostró un pico de expresión a los 10 días de producción alcanzando entre 20 y 150mg/L, con moléculas de alta afinidad (PetML119-S109Y, PetML119-S109H, PetML119-V133R) mostrando una mejora de 2x respecto a la molécula WT (SEQ ID NO:11), mientras que moléculas de menor afinidad (PetML119-E75T, PetML119-D134L) mostraron títulos ligeramente inferiores.

[0211] PetML119: 60mg/L

[0212] PetML119-E75T: 20mg/L

[0213] PetML119-S109Y: 130mg/L

[0214] PetML119-S109H: 150mg/L

[0215] PetML119-V133R: 120mg/L

[0216] PetML119-D134L: 30mg/L

Ejemplo 3 - Purificación de PetML119var

[0217] Las suspensiones celulares de clones transfectados estables de PetML119var, cultivados como se ha descrito durante al menos 7 días, se filtraron utilizando filtros de 0,22um tras incubarse durante 10 minutos con Sartoclear Dynamics® Lab V (SDLV-0500-20C-E). Los sobrenadantes aclarados se cargaron en una columna Mabselect sure LX preempaquetada de 20 mL (17547402), preequilibrada con PBS. La columna se lavó con 40mL de PBS (2CV) y después las proteínas de fusión se han eluido usando gradiente (0-100% en 2CV) de Glicina 0,1M pH2,7. Las fracciones que contenían proteínas de fusión se agruparon y neutralizaron con 100mM TRIS pH8 (concentración final).

[0218] Las fracciones de proteínas de fusión neutralizadas se concentraron a 5mL y se cargaron en HiLoad 16/600 Superdex 200 pg preequilibrada con PBS (28989335) como segundo paso de purificación. Las fracciones monoméricas (basadas en los tiempos de retención de los estándares de proteínas analizados previamente) se agruparon y la concentración de proteínas se evaluó con NanoDrop™ One (Thermo Scientific™).

[0219] Se obtuvieron alrededor de 10-60mg/L de producto purificado siguiendo el protocolo mencionado. Las variantes se purificaron en la misma medida que la WT; el rendimiento de las variantes no se alteró durante el proceso de purificación en relación con la WT.

[0220] PetML119: 30mg/L tras purificación en 2 pasos

[0221] PetML119-E75T: 10mg/L tras purificación en 2 pasos

[0222] PetML119-S109Y: 60mg/L tras purificación en 2 pasos

[0223] PetML119-S109H: 63,3mg/L tras purificación en 2 pasos
[0224] PetML119-V133R: 56,6mg/L tras purificación en 2 pasos
[0225] PetML119-D134L: 13,3mg/L tras purificación en 2 pasos

Ejemplo 4 - Cromatografía analítica por HPLC

[0226] La pureza del material purificado se evaluó utilizando tanto cromatografía de exclusión por tamaño (SEC), para los análisis de oligomerización, como cromatografía de intercambio catiónico (SCX) para los análisis de variantes de carga.
[0227] Cromatografía por HPLC-SEC (columna: BioResolve SEC mAb 200A, columna de 2,5um de WATERS) se realizó con ACQUITY H-class Bio de WATERS utilizando PBS como fase móvil con un caudal isocrático de 0,575mL/min.
[0228] Cromatografía por HPLC-SCX (columna: BioResolve SCX mAb, 3 µm, 4,6 mm x 100 mm) se realizó con ACQUITY H-class Bio de WATERS utilizando MES pH5 como fase móvil con gradiente salino usado para separar variantes de carga con un caudal de 0,9mL/min.
[0229] Se inyectaron 10uL de cada muestra tanto en el H-SEC como en el H-SCX utilizando el protocolo mencionado. Para cada molécula se determinó el porcentaje de especies monoméricas y el área (indicativa de la concentración de proteína).
[0230] Tanto PetML119wt como var mostraron una pureza muy elevada (más del 99%) mediante HSEC y se observaron pocas variantes de carga (potencialmente correspondientes a diferentes glicoformas) mediante HSCX, lo que confirma que las variantes de p75 no afectan a la pureza y homogeneidad finales del producto.

Ejemplo 5 - Validación de la afinidad de unión de la Proteína A

[0231] Las proteínas de fusión purificadas en PBS se concentraron utilizando concentradores centrífugos (Sartorious - VS02H22) a 5mg/mL de concentración de proteínas se evaluó utilizando absorbancia UV a 280nm con NanoDrop™ One (Thermo Scientific™).
[0232] La afinidad de unión de las proteínas de fusión a la Proteína A se evaluó utilizando Biacore 8K (Cytiva).
[0233] En resumen, se acopló un chip sensor de Proteína A (Cytiva) en un Biacore 8K, se equilibró durante 30’ a RT y luego se aplicó amortiguador de corrida (HEPES 10 mM pH7,4 NaCl 150 mM EDTA 3 mM y Tween20 al 0,005%) a la superficie del chip SPR.
[0234] Se prepararon diluciones de proteína de fusión diluyendo PetML119var de 1uM a 4nM (6 concentraciones con diluciones 1:3) en amortiguador de corrida y se evaluó la cinética utilizando el método de cinética de ciclo único (Biacore Assay Handbook, Cytiva). La cuantificación de cinética y/o afinidad se realizó utilizando Biacore Insight siguiendo métodos de análisis estándar.
[0235] Los resultados muestran que ninguna de las mutaciones de p75NTR indujo cambios en la unión a protA.

Ejemplo 6 - Determinación de la afinidad de unión del factor de crecimiento nervioso humano y de rata (h-rNGF) y otras NT

[0236] Las proteínas de fusión purificadas en PBS se concentraron utilizando concentradores centrífugos (Sartorious - VS02H22) a 5mg/mL de concentración de proteínas se evaluó utilizando absorbancia UV a 280nm con NanoDrop™ One (Thermo Scientific™).
[0237] La afinidad de unión de las proteínas de fusión a la NGF de humano y ratas se evaluó utilizando Biacore 8K (Cytiva). En resumen, se acopló un chip sensor de Proteína A (Cytiva) en un Biacore 8K, se equilibró durante 30’ a RT y luego se aplicó amortiguador de corrida (HEPES 10 mM pH7,4 NaCl 150 mM EDTA 3 mM y Tween20 al 0,005%) a la superficie del chip SPR.
[0238] PetML119var se diluyó en el amortiguador de corrida a una concentración de 6nM. Se inmovilizaron utilizando una asociación de 90 segundos a 10uL/min como paso de captura,

seguido de una inyección de amortiguador de corrida para eliminar cualquier producto no unido.

[0239] NGF humano (de Bio-Techne Ltd - 556-NG/CF / 256-GF-100/CF), BDNF humano (11166-BD), NT-3 humano (267-N3-025/CF), NT-4 humano (268-N4-025/CF) y proNGF (se diluyeron en amortiguador de corrida a 100nM con diluciones adicionales 1:2 hasta 4,68nM. La cinética se evaluó utilizando cinética multiciclo con método de paso de captura (30 segundos de asociación - 300 segundos de disociación) seguido de un paso de regeneración (0,1M Glicina pH2,2 tiempo de contacto 60 segundos FR 30uL/min). La cuantificación de cinética se realizó utilizando Biacore Insight siguiendo métodos de análisis estándar.

[0240] Los resultados mostraron KD subnanomolares tanto para el NGF humano como para las variantes mejoradas PetML119wt (Figura 3 y Tabla 1). Los mutantes de menor afinidad al NGF mostraron una afinidad 20x y 40x menor en relación con la observada con PetML119wt. Tanto PetML119wt como las variantes mostraron disociación del NGF con el tiempo, lo que indica que la unión es reversible. Esto contrasta con lo observado con el mAb anti-NGF (Bedinvetmab), en el que la unión se mantuvo constante a lo largo del tiempo.

Tabla 1 Afinidad de unión usando hNGF		
Anticuerpo/Fc-proteína	KD (nM)	RMAX
mAb anti-NGF	0,0073	837,1
PetML119	0,309	116,7
PetML119-E75T	12,4	77,1
PetML119-S109Y	0.225	91,1
PetML119-S109H	0,267	111,6
PetML119-V133R	0,346	109,2
PetML119-D134L	6,8	80,9
Afinidad de unión usando hBDNF		
Anticuerpo/Fc-proteína	KD (nM)	RMAX
mAb anti-NGF	ND	ND
PetML119	14,4	32,4
PetML119-E75T	15,4	31,2
PetML119-S109Y	16,7	18,1
PetML119-S109H	16,2	17,5
PetML119-V133R	42,3	7,5

PetML119-D134L	26,7	6,5
Afinidad de unión usando hNT-3		
Anticuerpo/Fc-proteína	KD (nM)	RMAX
mAb anti-NGF	ND	ND
PetML119	4,9	32,5
PetML119-E75T	5,1	38,8
PetML119-S109Y	8,3	40,1
PetML119-S109H	7,9	40,5
PetML119-V133R	7,2	35,7
PetML119-D134L	8,3	40,2
Afinidad de unión usando hNT-4		
Anticuerpo/Fc-proteína	KD (nM)	RMAX
mAb anti-NGF	ND	ND
PetML119	7,2	8,2
PetML119-E75T	98,5	3,9
PetML119-S109Y	12,0	6,4
PetML119-S109H	9,1	6,3
PetML119-V133R	8,3	6,1
PetML119-D134L	101,1	3,1
Afinidad de unión usando h-proNGF		
Anticuerpo/Fc-proteína	KD (nM)	RMAX
Ant-NGF mAb	0,0018	186
PetML119	0,0019	259

Las mismas moléculas se han probado también para la unión a otras 3 neurotrofinas (BDNF, NT-3 y NT-4) utilizando el mismo enfoque. Los resultados mostraron que las mutaciones racionales en p75NTR ECD alteran selectivamente la unión a NGF sin impacto en las otras

NT maduras (solo NT-4 mostró afinidades de unión reducidas con E75T y D134L, posiblemente debido a algunas similitudes atómicas locales entre estas dos NT).
La afinidad de unión de PetML119 y Bedinvetmab a proNGF se ha probado utilizando el mismo enfoque para confirmar que p75NTR-Fc era capaz de unirse a esta forma con mayor afinidad que la forma madura: PetML119 mostró una afinidad 171x mayor hacia el propéptido (0,0019 nM proNGF frente a 0,309 nM NGF). Bedinvetmab, un anticuerpo desarrollado contra la proteína NGF madura, mostró resultados similares tanto con el pro-NGF como con el NGF maduro.

Ejemplo 7 - Determinación del despliegue y la oligomerización

[0241] Las proteínas de fusión purificadas en PBS se concentraron utilizando concentradores centrífugos (Sartorious - VS02H22) a 5mg/mL de concentración de proteínas se evaluó utilizando absorbancia UV a 280nm con NanoDrop™ One (Thermo Scientific™).

[0242] Los análisis de Tm y Tagg se realizaron en UnCle de Unchained labs utilizando un protocolo estándar.

[0243] Brevemente, se utilizaron 10uL de proteína de fusión para determinar los eventos de despliegue y agregación durante una rampa de temperatura (de 25°C a 95°C).

[0244] Como se anticipó a partir de resultados anteriores, PetML119 no mostró agregación hasta 95°C con Tm1 alrededor de 78°C. Del mismo modo, ninguno de los mutantes mostraron agregación hasta 95°C con Tm1 alrededor de 76°C (Figura 4).

Ejemplo 8 - Ensayo de inhibición de NGF in vitro

[0245] Para evaluar la actividad biológica de la proteína de fusión p75, se utilizó una línea celular dependiente de NGF. El secuestro eficaz de NGF por la proteína de fusión dará lugar a una proliferación más lenta en comparación con el control.

[0246] La línea celular TF-1 se compró a ATCC (CRL-2003) y se mantuvo en cultivo siguiendo métodos asépticos estándar utilizando RPMI completo (10% FBS + 2mM 1-Gln + 10ng/mL hNGF).

[0247] Se marcaron 2 millones de células TF-1 con 2,5uM CFSE cell trace (Invitrogen - C34554) en 1mL de RPMI solo durante 30 minutos a RT en la oscuridad. A continuación, las células se lavaron 2x en medio RPMI completo, se contaron de nuevo y se sembraron a 10000células/mL (1mL de volumen total por pocillo) en placa de 24 pocillos.

[0248] La dilución de PetML119wt y variantes o controles (Bedinvetmab - control anti-NGF IgG, RPMI sin NGF como control negativo) se diluyeron en 100uL de medio RPMI desde una concentración de 3uM hasta 91,25nM. Se añadieron 100uL de dilución de proteína a cada pocillo.

[0249] Las placas se analizaron después de 3 días. Brevemente, se centrifugó 1mL de suspensión celular durante 5 minutos a 300g RT, se lavó 2 veces con amortiguador FACS (PBS + 3% FBS + 3mM EDTA) y finalmente se resuspendió en 100uL de amortiguador FACS. Las células se adquirieron con el citómetro de flujo CytoFLEX utilizando los siguientes parámetros (FSC:20; SSC:50; FITC:1; umbral: 1313131). Las células se separaron en función de la fluorescencia de FITC (a mayor fluorescencia, menor proliferación) y se calculó el % de inhibición de la proliferación teniendo en cuenta el 100% de inhibición de las células TF-1 cultivadas en RPMI sin NGF y el 0% de inhibición de las células cultivadas con medio RPMI completo. Para calcular los valores IC50 se utilizó Graph pad.

[0250] PetML119wt, las variantes y Bedinvetmab fueron capaces de inhibir la proliferación de TF-1 de forma dependiente de la dosis (Figura 5, Tabla 2). La incubación con Bedinvetmab mostró una inhibición completa, mientras que la incubación con PetML119wt tuvo un IC MAX en torno al 60-70%. Las moléculas de unión a NGF de menor afinidad mostraron una capacidad de inhibición reducida (en particular, el mutante D134L) en relación con

PetML119wt. Las moléculas de unión a NGF de alta afinidad mostraron una capacidad de inhibición mejorada en relación con PetML119wt, similar a Bedinvetmab. Es importante destacar que el IC MAX de todas las variantes no alcanzó 100, lo que indica una inhibición parcial. Esto contrasta con el anti-NGF Bedinvetmab que muestra un IC Max de 100, indicando una inhibición completa.

Tabla 2				
	PetML119	PetML119-E75T	PetML119-D134L	Bedinvetmab
IC50 (nM)	4,455	18,16	328,8	0,8899
ICMAX (%)	73,1	72,51	70,54	96,83
	PetML119	PetML119-S109Y	PetML119-S109H	PetML119-V133R
IC50 (nM)	4,455	0,1701	2,146	5,061
ICMAX (%)	73,1	88,51	93,45	80,49

Ejemplo 9 - Kit de ensayo funcional PathHunter® eXpress del receptor de tirosina cinasa

[0251] Para demostrar aún más que nuestras moléculas son capaces de inhibir la activación de la vía del NGF *in vitro*, se utilizó el kit de ensayo funcional PathHunter® eXpress del receptor de tirosina cinasa. Esto incluyó una línea celular diseñada para tener el dominio intracelular TrkA fusionado con un pequeño fragmento complementario de β-Gal.

[0252] La porción más grande de β-gal, denominada EA por "aceptor enzimático", se fusionó con proteínas que contenían dominios de unión a fosfo-tirosina. La activación del receptor inducida por ligandos provoca la homo o hetero-dimerización del receptor, lo que da lugar a una fosforilación cruzada. A continuación, la proteína de fusión SH2-EA se une específicamente al receptor fosforilado, lo que da lugar a la complementación de los dos fragmentos de β-gal y a la formación de una enzima funcional. A continuación, la actividad de β-gal se detectó cuantitativamente utilizando el sustrato quimioluminiscente del kit de detección PathHunter. Brevemente, se utilizó una concentración 3uM hasta 91,25nM de PetML119wt, var y control positivo anti-NGF mAB (Bedinvetmab) mientras que el NGF se utilizó a 2nM.

[0253] Las lecturas de luminiscencia mostraron que, de forma similar a lo observado en el ensayo TF-1, el anti-NGF mAb tiene una curva de inhibición de forma sigmoidal distinta que alcanza el 100% de inhibición de TrkA (Figura 6). En contraste con el anti-NGF, pero en consonancia con el ensayo TF-1, las moléculas PetML119 mostraron una curva de inhibición menos pronunciada que no alcanzó el 100% de inhibición. Asimismo, las moléculas PetML119 con alta afinidad por el NGF mostraron una mayor inhibición máxima en comparación con el WT (aunque sin alcanzar el 100% de inhibición), así como una menor IC50, mientras que las moléculas PetML119 con menor afinidad por el NGF mostraron una menor inhibición máxima en comparación con el WT, así como una mayor IC50, de nuevo en consonancia con el ensayo de inhibición del TF-1 (Tabla 3).

[0254] En conjunto, estos resultados sugieren que el anti-NGF mAb Bedinvetmab difiere de las moléculas PetML119 tanto en la concentración de inhibición como en la amplitud de la inhibición. Las nuevas moléculas de mutantes PetML119 modificadas de forma racional pueden acercarse al nivel de inhibición del NGF de Bedinvetmab o reducir aún más la inhibición del NGF de PetML119wt. Es importante destacar que esto se logra sin alcanzar el

100% de inhibición de NGF, lo que proporciona una base mecanicista detrás de su esperada actividad DMOAD *in vivo*.

Tabla 3							
	PetML119	PetML119 -S109Y	PetML119 - S109H	PetML119 - V133R	PetML119 -E75T	PetML119 - D134L	Bedinvetmab
Mejor ajuste							
Inferior (%)	9,5	7,794	10,35	14,33	44,45	53,68	5,352
Superior (%)	Inestable	87,3	48,3	49,29	72,63	82,73	123
IC50 (nM)	8,04	2,154	2,201	2,56	82,62	20,84	4,238

Ejemplo 10 - OA inducida por MIA en ratas (eficacia, pK y mediciones del diámetro articular)

[0255] Se analizaron la eficacia y la semivida de PetML119 y sus variantes utilizando un modelo de OA en ratas. A continuación se muestra el protocolo detallado. El modelo se muestra en la Figura 7.

Inducción de artritis

[0256] La osteoartritis se indujo químicamente mediante una inyección intraarticular (I.A.) de 3 mg de yodoacetato monosódico (MIA) (en 25 µL de solución salina) en la articulación de la rodilla de la extremidad posterior derecha de la rata administrada bajo anestesia de isoflurano. Durante la anestesia, se aplicó una pomada oftálmica en ambos ojos. El día de la inyección I.A. de MIA se consideró el día 0.

Asignación de grupos de tratamiento

[0257] A todas las ratas se les midió la carga dinámica de peso (DWB) basal. También se midió el peso corporal (BW) al mismo tiempo. Se anestesió a las ratas y se inyectó MIA en la articulación de la rodilla derecha a través de la mitad del tendón rotuliano, aproximadamente perpendicular a la tibia (intraarticular). El nivel de dosis para la inyección I.A. de MIA se seleccionó en base al informe de bibliografía anterior en roedores (Bove et al.: Weight bearing as a measure of disease progression and efficacy of anti-inflammatory compounds in a model of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage. 2003 Nov;11(11):821-830). Se asignaron al estudio animales que mostraban una diferencia significativa en la carga de peso entre la extremidad inyectada con MIA (derecha) y la extremidad sana (izquierda). La aleatorización se realizó en función *tanto* de DWB como BW basales (aleatorización de dos variables).

Evaluación del soporte dinámico de peso (DWB)

[0258] El soporte dinámico del peso se evaluó utilizando el sistema automatizado BioSeb® DWB de acuerdo con el manual del fabricante. Se realizó un registro de dos minutos para cada rata. El análisis de los datos de soporte dinámico de peso se realizó fuera de línea utilizando el software BioSeb®. El sistema calculó automáticamente el peso soportado por cada extremidad y la cola. Se midió el peso corporal de cada rata inmediatamente antes del DWB para cada momento de la prueba. La medición de la DWB se realizó en diferentes puntos temporales según lo previsto en el diseño del estudio. También se anotó la distancia total recorrida durante el análisis de los datos de DWB.

Dosificación con elementos de prueba

[0259] Las ratas del Grupo 1-2 recibieron inyecciones intravenosas (IV) de vehículo y las ratas del Grupo 3-8 recibieron inyecciones IV con los elementos de prueba en las dosis designadas una vez el Día 3 como se muestra en la tabla siguiente.

Estudio con ratas inducido por yodoacetato monosódico (MIA)

Diseño del estudio

Tabla 4

*Gr	Grupo de tratamiento	TI Nivel de dosis	TI Ruta, Volumen	TI Esquema de dosificación	Evaluación de DWB	N
1	Sin tratamiento/ Vehículo PBS	0	IV, 5mL/kg	Día 3, QD	Día 1 (inicial), Días 3, 6, 14, 21	10
2	3mg MIA/ Vehículo PBS	0	IV, 5mL/kg	Día 3, QD	Día 1 (inicial), Días 3, 6, 14, 21	10
3	3mg MIA/ Muestra 1 (PetML119)	0,5 mg/kg	IV, 5mL/kg	Día 3, QD	Día 1 (inicial), Días 3, 6, 14, 21	10
4	3mg MIA/ Muestra 2 (PetML119-E75T)	0,5 mg/kg	IV, 5mL/kg	Día 3, QD	Día 1 (inicial), Días 3, 6, 14, 21	10
5	3mg MIA/ Muestra 3 (PetML119-S109Y)	0,5 mg/kg	IV, 5mL/kg	Día 3, QD	Día 1 (inicial), Días 3, 6, 14, 21	10
6	3mg MIA/ Muestra 1 (PetML119)	0,1 mg/kg	IV, 5mL/kg	Día 3, QD	Día 1 (inicial), Días 3, 6, 14, 21	10
7	3mg MIA/ Muestra 2 (PetML119-E75T)	0,1 mg/kg	IV, 5mL/kg	Día 3, QD	Día 1 (inicial), Días 3, 6, 14, 21	10
8	3mg MIA/ Muestra 3 (PetML119-S109Y)	0,1 mg/kg	IV, 5mL/kg	Día 3, QD	Día 1 (inicial), Días 3, 6, 14, 21	10

*Los animales de los Grupos 2 a 8 más los de reserva reciben una única inyección intraarticular (IA) con MIA (3mg/25µL de solución salina) y el día de la inyección de MIA se considera el Día 0 (en la articulación de la rodilla derecha).
IV: Intravenoso (vena de la cola); PO: alimentación oral; Qd-una vez al día

[0260] Durante el estudio se observó si los animales tratados presentaban algún signo clínico. No se observaron signos adversos. Se analizó el DWB en los días 3, 6, 14 y 21. El diámetro articular se midió con un calibrador en la articulación de la rodilla derecha (medio-lateral) los días 3, 6, 14 y 21.

[0261] Brevemente, se probó el efecto analgésico de PetML119, PetML119-S109Y y

PetML119-E75T (dosis única) (Figura 11). Todas las moléculas ensayadas mostraron un buen efecto analgésico, alcanzando su efecto máximo el día 6. El efecto analgésico dependió de la dosis. Como era de esperar, la variante p75NTR de menor afinidad PetML119-E75T mostró una eficacia reducida en el alivio del dolor a largo plazo (es decir, a partir del día 14), mientras que WT y PetML119-S109Y fueron eficaces hasta el final del estudio. Del mismo modo, las mediciones del diámetro articular mostraron rodillas agrandadas desde el día 3 hasta el final del estudio (solo en los grupos WT y S109Y, E75T solo hasta el día 6) de forma dependiente de la dosis (Figura 13). Esto suele asociarse a un aumento de la inflamación.

[0262] Las extracciones para PK de 5 ratas por grupo se tomaron siguiendo procedimientos estándar en días alternativos.

Análisis pk en suero

[0263] Los ELISA intercalados para cuantificar los niveles séricos de la proteína de fusión se configuraron de la siguiente manera:

- Se inmovilizaron 30uL de 2ug/mL de anticuerpo de captura (Ab p75 de ratón anticanino --> MAB367-SP (Novus Bio)) diluido en PBS + 0,1M de bicarbonato sódico en placas ELISA de media área (MICROPLATE, 96 WELL, PS, HALF AREA, CLEAR, Artículo Núm: 675061) durante la noche a 4°C.
- Las placas se lavaron 2X con 200uL de solución de bloqueo (PBS + 5%DNFM + 0,2% Tween20) y el bloqueo se realizó con 150uL de solución de bloqueo en todos los pocillos durante 3 h a RT.
- Los sueros de diferentes puntos temporales/grupos del estudio de ratas se diluyeron 100x en solución de bloqueo (2uL de suero + 198uL de solución de bloqueo) y se añadieron 30uL a los pocillos pertinentes. Los estándares de PetML119 se prepararon diluyendo la proteína de fusión en suero de rata desde 100ug/mL hasta 1ng/mL con diluciones 1:5. A continuación, los estándares se diluyeron 100x en solución de bloqueo y se añadieron 30uL a los pocillos correspondientes.
- Los sueros se incubaron durante 1 h a RT con agitación a 450 rpm.
- Las placas se lavaron 2x con 200uL de solución de bloqueo; el anticuerpo de detección (SA5-10309 (ThermoFisher)) se diluyó 1:40000 en solución de bloqueo y se añadieron 30uL a cada pocillo y se dejaron 30' a RT con agitación a 450rpm.
- Las placas se lavaron 2x con 200uL de solución de bloqueo; el anticuerpo conjugado de desarrollo con HRP (A16035 (ThermoFisher)) se diluyó 1:10000 en solución de bloqueo y se añadieron 30uL a cada pocillo y se dejaron 30' a RT con agitación a 450rpm.
- Las placas se lavaron 2x con 200uL de solución de bloqueo, luego 2x con 200uL de PBS + 0,2%Tween20 y finalmente se añadieron 50uL de TMB (solución cromógena TMB (para ELISA) --> 002023) a cada pocillo. Después de 10', cuando la curva estándar mostró saturación en los dos primeros puntos, se detuvo la reacción añadiendo 50uL de ácido sulfúrico 1M.
- Todos los pocillos se leyeron con CLARIOstar Plus (BMG LABTECH) usando Absorbancia de punto final a 650nm y 450nm. Los valores se importaron a Graph Pad y se aplicó un ajuste de decaimiento de una fase para estimar la semivida de estos.

[0264] PetML119var mostró una semivida plasmática similar (Figura 12A, Tabla 5).

Tabla 5						
Deterioro de una	**PetML119 HD**	**PetML119 LD (0,1mg/kg)**	**PetML119-E75T HD**	**PetML119-E75T LD**	**PetML119-S109Y HD**	**PetML119-S109Y LD**

fase	(0,5mg/kg)		(0,5mg/kg)	(0,1mg/kg)	(0,5mg/kg)	(0,1mg/kg)
Y0 (ng/ml)	3655	971,8	6722	1806	3366	788,2
Meseta (horas)	422	83,38	290,4	137,6	196,3	79,53
Semivida (horas)	60,8	65,34	61,94	50,63	42	53,81
R cuadrado	0,9292	0,927	0,9362	0,9336	0,9269	0,9537

Por lo general, el NGF no se detecta (o se detecta en niveles muy bajos) en el plasma. Una molécula de unión a NGF (es decir, mAb o proteína de fusión Fc) administrada sistémicamente conduciría a un aumento de los niveles plasmáticos de NGF. Las ratas tratadas con PetML119-E75T experimentaron un pico de NGF más rápido (24 horas) que la molécula WT PetML119 (144 horas). Por el contrario, las ratas tratadas con PetML119-S109Y experimentaron un pico de NGF más tardío (336 horas). En este estudio se demostró que tras la inducción de MIA y la administración de las moléculas p75-Fc, los niveles de NGF en plasma eran detectables. Además, las variantes de p75NTR mostraron niveles máximos distintos de NGF correlacionados con su afinidad a esta molécula. Esto concuerda con los efectos analgésicos de larga duración observados por PetML119 y PetML119-S109Y, mientras que PetML119-E75T perdió su actividad al cabo de 6 días. Las diferencias observadas en la inhibición del NGF pueden impulsar los efectos antiinflamatorios/DMOAD *in vivo*, como se observa en las mediciones del diámetro articular.

[0265] Se espera que las moléculas variantes muestren las mismas propiedades de seguridad que las mostradas en los estudios caninos *in vivo* anteriores. Esto, por ejemplo, se demuestra en el Ejemplo 12 de WO2023067358, donde lo animales mantienen un peso corporal y unos parámetros hematológicos normales y no generan anticuerpos antifármaco tras la administración de las proteínas de fusión. El mantenimiento del peso corporal normal tras la administración se demuestra también, por ejemplo, en el Ejemplo 11 de WO2023067358. Esto contrasta con la administración de dexametasona, que disminuyó el peso corporal con el tiempo.

Ejemplo 11 - Fármaco modificador de la enfermedad osteoartrítica (DMOAD) en ratas

[0266] Se optimizó un modelo para evaluar el efecto terapéutico de las moléculas p75NTR-Fc en ratas con OA. Brevemente, se indujo la osteoartritis inyectando una dosis baja de MIA (0,3 mg) en la rodilla derecha/izquierda de una rata. Después de 4 semanas, cuando los signos de artritis eran visibles, los animales fueron tratados IV 2 veces con 14 días de diferencia (día 28 y día 42) con moléculas p75NTR-Fc (a 3 dosis, 0,5mg/kg - 0,2mg/kg y 0,05mg/kg) o vehículo como control. Cada individuo por grupo fue sacrificado el día 56; las rodillas afectadas se sometieron a IHC (tinción de H&E, azafrán-O) y se puntuaron para cambios estructurales, formación de clones, pérdida de condrocitos, pérdida de tinción SOFG, osteofitos y puntuación compuesta (suma de todo lo anterior) utilizando el sistema de puntuación de Mankin para las zonas media de la tibia, lateral de la tibia, media del fémur y lateral del fémur. Se recogieron sueros en diferentes momentos para evaluar los niveles sistémicos de compuesto activo, NGF y otros biomarcadores.

[0267] Los resultados, mostrados en la Figura 15, muestran un efecto dependiente de la dosis

de p75NTR- Fc, siendo la concentración más baja la que tiene el efecto DMOAD más profundo en todos los fenotipos de osteoartritis analizados.

Ejemplo 12 - investigación antiinflamatoria de moléculas p75NTR-Fc en la línea celular DH82

[0268] El Pro-NGF y el NGF tienen diferentes actividades in vivo, mostrando el primero efectos proinflamatorios, catabólicos y apoptóticos, mientras que el segundo tiene efectos antiinflamatorios, anabólicos y proliferativos. Para evaluar si la unión preferente a moléculas p75NTR-Fc proNGF (y en menor medida a NGF) tiene un impacto en la inflamación, se ha configurado un ensayo in vitro utilizando la línea celular DH82 (similar a macrófagos caninos - CRL-3590 ™ATCC).

[0269] Brevemente, las células han sido sembradas a una densidad de 1million/mL en una placa de 6 pocillos utilizando EMEM + 15% FBS inactivado por calor y se dejó durante 16 h a 37°C 5% CO2 en incubadora estática. Se añadieron 100ng/mL de LPS, 2ng/mL de IL1β o solo medio a las células para inducir el efecto proinflamatorio (o se utilizó como control). Dos concentraciones de PetML119 (625nM o 1nM) o solo el medio se han añadido concomitantemente a las células. Tras 24 h, se recogieron los sobrenadantes y se utilizaron para cuantificar las citocinas proinflamatorias.

[0270] TNFα e IL-6, junto con ELISA (ab193687, ab193760 de AbCam y CA6000 de R&D Systems) de NGF (detectando tanto pro-NGF como NGF maduro), se han utilizado siguiendo las especificaciones del proveedor.

[0271] Los resultados mostraron que tanto el LPS como la IL1β indujeron la secreción de citocinas proinflamatorias, así como de NGF total, en comparación con el control (Figura 14). El tratamiento con PetML119 mostró una supresión de los niveles totales de NGF (Figura 14) en forma de respuesta a la dosis. Curiosamente, el PetML119 tuvo una actividad diferencial sobre el TNFα y la IL-6 en función de la concentración utilizada. A altas concentraciones, PetML119 indujo una mayor secreción de citocinas, mientras que a bajas concentraciones mostró niveles reducidos de las mismas.

[0272] Este interesante hallazgo se correlaciona con la unión preferencial del PetML119 hacia el proNGF en contraste con el NGF: a alta concentración, la molécula p75NTR-Fc puede reducir tanto el pro-NGF como el NGF maduro, impidiendo la actividad antiinflamatoria de la forma madura. A bajas concentraciones, PetML119 puede bloquear preferentemente el pro-NGF (debido a su menor afinidad con el NGF maduro), reduciendo así sus efectos proinflamatorios, mientras que el NGF maduro libre puede actuar como antiinflamatorio, mostrando así una reducción del TNFα y la IL-6. Del mismo modo, se espera que las moléculas variantes de menor afinidad bloqueen preferentemente el pro-NGF. Se espera que las moléculas variantes de menor afinidad, por ejemplo E75T, tengan un efecto antiinflamatorio a concentraciones más altas.

Ejemplo 13 - Modificación del pedúnculo de p75NTR ECD humana - construcciones proteicas y transfección/expresión en CHO-s

[0273] A continuación se enumeran las secuencias de aminoácidos para las construcciones proteicas. Las secuencias de aminoácidos se proporcionan en la sección Secuencias

PetML 308- p75NTR ECD humana con pedúnculo completo IgG1 (SEQ ID NO:81)

PetML 309 - p75NTR ECD humana con pedúnculo parcial IgG1 (SEQ ID NO:82)

PetML 319 - p75NTR ECD humana sin pedúnculo (SEQ ID NO:83)

[0274] Para la producción de proteínas, se generaron construcciones de ADN para codificar la proteína de fusión Fc quimérica que comprende regiones constantes IgG humanas seleccionadas (entre bisagra y extremo C) fusionadas con el dominio extracelular de p75 humano que contiene (PetML308 - pedúnculo completo) o carece de sitios de γ-secretasa

predichos (PetML309 - pedúnculo parcial) o carece de sitios de O-glicosilación y γ-secretasa predichos (PetML319 - sin pedúnculo).

[0275] Se sintetizaron tanto el dominio Fc IgG1 humano como el dominio extracelular p75 (res 31- 194 de UniProtKB). Ambos genes se amplificaron por PCR con ADN polimerasa de alta fidelidad Q5 (utilizando cebadores específicos que incluían regiones solapadas para permitir el ensamblaje) y se ensamblaron en el vector de expresión de mamíferos PetML319var utilizando NEBuilder HIFI DNA Assembly (New England Biolabs). En el vector de expresión, la cadena de proteína de fusión y las unidades de expresión del gen resistente a antibióticos están flanqueadas por repeticiones invertidas terminales del transposón de ADN *piggyBac* para mediar la integración estable en las células hospedadoras en presencia de la transposasa piggyBac. A continuación, el vector de expresión se transfectó en una línea celular de mamífero adecuada, como las células CHO, junto con la transposasa PiggyBac para obtener una expresión estable. Para la producción de la proteína de fusión, se sembraron 1×10^6/mL de células CHO seleccionadas en 800 mL de medio de cultivo (F17 + 4mM 1-Gln + 0,3%P188 + 1:500 ACA) y se incuban a 32°C, 8% CO_2 con agitación a 130 rpm. A partir del 4.º día de sobreproducción, se añade diariamente a los medios un suplemento del 2% de HyClone Cell Boost 7a + un suplemento del 0,2% de HyClone Cell Boost 7b 2mM de glucosa. Los sobrenadantes del cultivo se recogen el día 10 y se determina la concentración de proteína mediante resonancia de plasmón superficial utilizando un chip de proteína A (Biacore 8K, Cytiva Life Sciences).

[0276] Normalmente, las moléculas p75-Fc humanas mostraron un pico de expresión a los 10 días de producción alcanzando entre 20 y 60mg/L, siendo la molécula sin pedúnculo la que mostró mejores rendimientos seguida de las que tienen pedúnculo parcial y pedúnculo completo.

PetML308: 20mg/L
PetML309: 30mg/L
PetML319: 60mg/L

Ejemplo 14 - Purificación de moléculas p75-Fc humanas

[0277] Las suspensiones celulares de clones transfectados estables de PetML319, PetML308 o PetML309, cultivados como se ha descrito durante al menos 7 días, se filtraron utilizando filtros de 0,22um tras incubarse durante 10 minutos con Sartoclear Dynamics® Lab V (SDLV-0500-20C-E). Los sobrenadantes aclarados se cargaron en una columna Mabselect sure LX preempaquetada de 20 mL (17547402), preequilibrada con PBS. La columna se lavó con 40mL de PBS (2CV) y después las proteínas de fusión se han eluido usando gradiente (0-100% en 2CV) de Glicina 0,1M pH2,7. Las fracciones que contenían proteínas de fusión se agruparon y neutralizaron con 100mM TRIS pH8 (concentración final).

[0278] Las fracciones de proteínas de fusión neutralizadas se concentraron hasta 5mL y se cargaron en HiLoad 16/600 Superdex 200 pg preequilibrada con PBS (28989335) como segundo paso de purificación. Las fracciones monoméricas (basadas en los tiempos de retención de los estándares de proteínas analizados previamente) se agruparon y la concentración de proteínas se evaluó con NanoDrop™ One (Thermo Scientific™).

[0279] Se obtuvieron alrededor de 10-30mg/L de producto purificado siguiendo el protocolo mencionado. No se han informado diferencias en cuanto a la recuperación de la purificación entre wt y variantes, las diferencias se deben a títulos diferentes.

PetML308: 10mg/L tras purificación en 2 pasos
PetML309: 12mg/L tras purificación en 2 pasos
PetML319: 30mg/L tras purificación en 2 pasos

Ejemplo 15 - Cromatografía analítica por HPLC

[0280] La pureza del material purificado se evaluó utilizando tanto cromatografía de exclusión por tamaño (SEC), para los análisis de oligomerización, como cromatografía de intercambio catiónico (SCX) para los análisis de variantes de carga.
[0281] Cromatografía por HPLC-SEC (columna: BioResolve SEC mAb 200A, columna de 2,5um de WATERS) se realizó con ACQUITY H-class Bio de WATERS utilizando PBS como fase móvil con un caudal isocrático de 0,575mL/min.
[0282] Cromatografía por HPLC-SCX (columna: BioResolve SCX mAb, 3 µm, 4,6 mm x 100 mm) se realizó con ACQUITY H-class Bio de WATERS utilizando MES pH5 como fase móvil con gradiente salino usado para separar variantes de carga con un caudal de 0,9mL/min.
[0283] Se inyectaron 10uL de cada muestra en H-SEC / H-SCX utilizando el protocolo mencionado. Para cada molécula se determinó el porcentaje de especies monoméricas y el área (indicativa de la concentración de proteína).
[0284] PetML319 mostró una pureza muy elevada (más del 99%) mediante HSEC y se observaron pocas variantes de carga (potencialmente correspondientes a diferentes glicoformas) mediante HSCX, mientras que PetML309 y 308 mostraron presencia de agregados, lo que lleva a pensar que esta región peduncular puede afectar negativamente a la capacidad de desarrollo de estas moléculas.

Ejemplo 16 - Validación de la afinidad de unión de la Proteína A

[0285] Las proteínas de fusión purificadas en PBS se concentraron utilizando concentradores centrífugos (Sartorious - VS02H22) a 5mg/mL de concentración de proteínas se evaluó utilizando absorbancia UV a 280nm con NanoDrop™ One (Thermo Scientific™).
[0286] La afinidad de unión de las proteínas de fusión a la Proteína A se evaluó utilizando Biacore 8K (Cytiva).
[0287] En resumen, se acopló un chip sensor de Proteína A (Cytiva) en un Biacore 8K, se equilibró durante 30’ a RT y luego se aplicó amortiguador de corrida (HEPES 10 mM pH7,4 NaCl 150 mM EDTA 3 mM y Tween20 al 0,005%) a la superficie del chip SPR.
[0288] Se prepararon diluciones de proteína de fusión diluyendo PetML319, PetML308 o PetML309 de 1uM a 4nM (6 concentraciones con diluciones 1:3) en amortiguador de corrida y se evaluó la cinética utilizando el método de cinética de ciclo único (Biacore Assay Handbook, Cytiva). La cuantificación de cinética y/o afinidad se realizó utilizando Biacore Insight siguiendo métodos de análisis estándar.
[0289] Los resultados muestran que todas las moléculas tienen una unión a proteína A competente.

Ejemplo 17- Determinación de la afinidad de unión del factor de crecimiento nervioso humano y de rata (h-rNGF)

[0290] Las proteínas de fusión purificadas en PBS se concentraron utilizando concentradores centrífugos (Sartorious - VS02H22) a 5mg/mL La concentración de proteínas se evaluó utilizando absorbancia UV a 280 nm con NanoDrop™ One (Thermo Scientific™).
[0291] La afinidad de unión de las proteínas de fusión a la NGF de humano y ratas se evaluó utilizando Biacore 8K (Cytiva).
[0292] En resumen, se acopló un chip sensor de Proteína A (Cytiva) en un Biacore 8K, se equilibró durante 30’ a RT y luego se aplicó amortiguador de corrida (HEPES 10 mM pH7,4 NaCl 150 mM EDTA 3 mM y Tween20 al 0,005%) a la superficie del chip SPR.
[0293] PetML319, PetML308 o PetML309 se diluyó en el amortiguador de corrida a una concentración de 6nM. Se inmovilizaron utilizando una asociación de 90 segundos a 10uL/min como paso de captura, seguido de una inyección de amortiguador de corrida para eliminar cualquier producto no unido.
[0294] El NGF humano y de rata (de Bio-Techne Ltd - 556-NG/CF / 256-GF-100/CF) se diluyó

en amortiguador de corrida a 100nM con diluciones adicionales 1:2 hasta 4,68nM. La cinética se evaluó utilizando cinética multiciclo con método de paso de captura (30 segundos de asociación - 300 segundos de disociación) seguido de un paso de regeneración (0,1M Glicina pH2,2 tiempo de contacto 60 segundos FR 30uL/min). La cuantificación de cinética se realizó utilizando Biacore Insight siguiendo métodos de análisis estándar (Tabla 6).

Tabla 6					
ECD variante de pedúnculo	Ligando	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	Rmáx (RU)
PetML308	hNGF	3,42E+02	1,94E-03	5,68E-06	15,9
PetML309	hNGF	1,11E+06	2,75E-02	2,48E-08	18,4
PetML319	hNGF	8,86E+06	6,59E-04	7,43E-11	76,1

[0295] Los resultados mostraron una KD subnanomolar para el NGF humano y de rata con PetML319, mientras que la afinidad fue ligeramente inferior para PetML309 y 308 respectivamente (Tabla 7).

Tabla 7		
Anticuerpo/Fc-proteína	KD (nM)	RMAX
mAb anti-NGF	0,0073	837,1
PetML319	0,358	370,8
PetML308	8,78	345,4
PetML309	2,31	131,9
PetML309	2,31	131,9

<u>Ejemplo 18 - Determinación del despliegue y la oligomerización</u>

[0296] Las proteínas de fusión purificadas en PBS se concentraron utilizando concentradores centrífugos (Sartorious - VS02H22) a 3mg/mL de concentración de proteínas se evaluó utilizando absorbancia UV a 280nm con NanoDrop™ One (Thermo Scientific™).

[0297] Los análisis de Tm y Tagg se realizaron en UnCle de Unchained labs utilizando un protocolo estándar. (FIG. 9)

[0298] Brevemente, se utilizaron 10uL de proteína de fusión para determinar los eventos de despliegue y agregación durante una rampa de temperatura (de 25°C a 95°C). Ninguna de las moléculas mostraron agregación hasta 95°C con Tm1 alrededor de 76°C. (Tabla 8)

Tabla 8	
ECD variante de pedúnculo	Tm (°C)
PetML308	75,6

PetML309	73,6
PetML319	81,04

Ejemplo 19 - Kit de ensayo funcional PathHunter® eXpress del receptor de tirosina cinasa

[0299] Para demostrar aún más que las moléculas son capaces de inhibir la activación de la vía del NGF *in vitro*, se utilizó el ensayo PathHunter eXpress en el que se modificó una línea celular para que tuviera el dominio intracelular TrkA fusionado con un pequeño fragmento complementario de β-Gal. La porción más grande de β-gal, denominada EA por "aceptor enzimático", se fusiona con proteínas que contenían dominios de unión a fosfo-tirosina. La activación del receptor inducida por ligandos provoca la homo o hetero-dimerización del receptor, lo que da lugar a una fosforilación cruzada. A continuación, la proteína de fusión SH2-EA se une específicamente al receptor fosforilado, lo que da lugar a la complementación de los dos fragmentos de β-gal y a la formación de una enzima funcional. A continuación, la actividad de β-gal se detectó cuantitativamente utilizando el sustrato quimioluminiscente del kit de detección PathHunter.

[0300] Brevemente, se utilizó una concentración 3uM hasta 91,25nM de PetML119wt, var y control positivo anti-NGF mAB (Bedinvetmab) mientras que el NGF se utilizó a 2nM. Las lecturas de luminiscencia mostraron que, de forma similar a lo observado en el ensayo TF-1, el anti-NGF mAb tiene una curva de inhibición de forma sigmoidal distinta que alcanza el 100% de inhibición de TrkA. En contraste con el anti-NGF, pero en consonancia con el ensayo TF-1, las moléculas PetML119 no alcanzaron el 100% de inhibición. Además, las moléculas PetML119 de alta afinidad por NGF mostraron una mayor inhibición máxima (aún no del 100%) y una IC50 reducida, mientras que las moléculas PetML119 de menor afinidad por NGF mostraron muy poca inhibición, de nuevo de forma consistente con el ensayo de inhibición de TF-1.

[0301] En conjunto, estos resultados sugieren que el anti-NGF mAb Bedinvetmab difiere de las moléculas p75-Fc humano tanto en la concentración de inhibición como en la amplitud de la inhibición. Además, la molécula sin pedúnculo mostró mejores resultados que las de pedúnculo parcial y pedúnculo completo, probablemente debido a una menor estabilidad y capacidad de unión, como se ha descrito anteriormente.

Tabla 9				
	Bedinvetmab	PetML308	PetML309	PetML319
Valores de ajuste óptimo				
Inferior (%)	2,111	44,48	28,73	9,5
Superior (%)	93,48	105,2	97,92	Inestable
IC50 (nM)	1,138	282,1	18,70	8,04

Secuencias

Proteína p75NTR canina (SEQ ID NO:1)

KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT

ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDRQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGRWITRSTPSE
DSDSTAPSTEEPELPPDQEIIASTMADVVTTVMGSSQPVVTRGTADNLIPVYCSILAAVV
VGLVAYIAFKRWNSCKQNKQGANSRPVNQTPPPEGEKLHSDSGISVDSQSLHDQQPHTQ
TAAGQALKGDGGLYSSLPPAKREEVEKLLNGSAGDTWRHLAGELGYQPEHIDSFTHEA
CPARALLASWAAQDSATLDALLAALRRIQRADIVESLCSESTATSPV

ECD está subrayado.

Secuencia de ácido nucleico p75NTR canino (SEQ ID NO:2)
ATGGACGGGCCGCGCCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTCCTGGGGGTGTCCCTTGGA
GGTGCCAAGGAGGCATGTCCCACTGGCCTGTACACCCACAGCGGCGAGTGCTGCAA
AGCCTGCAATCTGGGTGAGGGGGTGGCCCAGCCTTGCGGAGCCAACCAGACCGTGT
GTGAGCCCTGCCTGGACAGCGTGACCTTCTCGGACGTGGTGAGCGCCACCGAGCCG
TGCAAGCCGTGCACCGAGTGCGTGGGGCTGCAGAGCATGTCGGCGCCGTGCGTGGA
GGCGGACGACGCCGTGTGCCGCTGCGCCTACGGCTACTACCAGGACGAGACGACGG
GCCGCTGCGAGGCGTGCCGCGTGTGCGAGGCGGGCTCGGGGCTCGTGTTCTCGTGCC
AGGACAGGCAGAACACCGTGTGCGAGGAGTGTCCCGACGGCACGTACTCCGACGAG
GCCAACCACGTGGACCCGTGCCTGCCCTGCACCGTGTGCGAGGACACCGAGCGCCA
GCTGCGCGAGTGCACGCGCTGGGCCGACGCCGAGTGCGAGGAGATCCCTGGCCGTT
GGATTACCCGGTCCACACCCTCAGAGGACTCGGACAGCACCGCCCCCAGCACAGAG
GAGCCAGAGCTACCTCCAGATCAAGAAATCATAGCCAGCACCATGGCAGATGTGGT
GACCACAGTGATGGGCAGCTCTCAGCCTGTAGTGACCCGAGGAACCGCTGACAACC
TCATCCCTGTCTACTGCTCCATCCTGGCCGCCGTGGTTGTGGGCTTAGTGGCCTACAT
TGCCTTCAAGAGGTGGAACAGCTGCAAGCAGAACAAGCAAGGAGCCAACAGCCGG
CCCGTGAACCAGACGCCTCCGCCGGAGGGAGAAAAGCTCCACAGTGACAGTGGCAT
CTCTGTGGACAGCCAGAGCCTGCATGACCAGCAGCCCCACACACAGACGGCCGCAG
GCCAGGCCCTCAAGGGGGATGGAGGTCTCTACAGCAGCCTGCCACCAGCCAAGCGG
GAGGAGGTGGAGAAGCTGCTCAATGGCTCTGCGGGGGACACCTGGCGGCACCTGGC
AGGTGAGCTGGGCTACCAGCCTGAGCACATAGACTCCTTCACCCACGAGGCCTGCC
CAGCCCGAGCCCTGCTTGCCAGCTGGGCCGCCCAGGACAGCGCGACGCTCGACGCC
CTCCTGGCTGCTCTGCGCCGCATCCAGCGAGCCGACATCGTGGAGAGCCTGTGTAGC
GAGTCCACGGCCACGTCTCCAGTGTGA

La secuencia líder está subrayada.

Proteína p75NTR felina (SEQ ID NO:3)
KEACPTGLFTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDRQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGRWITRSTPSE
GSDSTAPSTEEPEVPPEQDLIASTVADVVTTVMGSSQPVVTRGTADNLIPVYCSILAAVV
VGLVAYIAFKRWNSCKQDKQGANSRPVNQTPPPEGEKLHSDSGISVDSQSLHDQQSHTQ
TAAGQALKGDGGLYSSLPSAKREEVEKLLNGSAGDTWRHLAGELGYQPEHIDSFTREA
CPARALLASWAAQDSATLDALLAALRRIQRADIVESLCSESTATSPV

ECD está subrayado.

Secuencia de ácido nucleico p75NTR felino (SEQ ID NO:4)

ATGGACGGGCCGCGCCCGCTGCTGCTGCTGTTGCCGCTGCTCCTGGGGGTGTCCCTT
GGAGGTGCCAAGGAGGCATGTCCCACGGGCCTGTTCACCCACAGCGGCGAGTGCTG
TAAAGCCTGCAACCTGGGAGAGGGCGTAGCCCAGCCTTGCGGAGCCAACCAGACCG
TGTGTGAGCCCTGCCTGGACAGCGTGACCTTCTCGGACGTGGTGAGCGCCACGGAG
CCGTGCAAGCCGTGCACCGAGTGCGTGGGCCTGCAGAGCATGTCGGCGCCGTGCGT
GGAGGCCGACGACGCCGTGTGTCGCTGCGCCTACGGCTACTACCAGGACGAGACGA
CGGGCCGCTGCGAGGCGTGCCGCGTGTGCGAGGCGGGCTCCGGCCTGGTGTTCTCGT
GCCAGGACCGGCAGAATACCGTGTGCGAGGAGTGTCCCGACGGCACGTACTCGGAC
GAGGCCAACCACGTGGACCCGTGCCTGCCCTGCACCGTGTGCGAGGACACCGAGCG
CCAGCTGCGCGAGTGCACGCGCTGGGCCGACGCCGAGTGCGAGGAGATCCCTGGCC
GTTGGATTACTCGGTCTACACCTTCGGAGGGCTCGGACAGCACCGCCCCCAGCACGG
AGGAGCCAGAGGTACCTCCAGAGCAAGACCTCATAGCCAGCACGGTGGCAGATGTG
GTGACCACAGTGATGGGCAGCTCTCAGCCCGTAGTGACCCGAGGCACCGCCGACAA
CCTCATCCCTGTCTATTGTTCCATCCTGGCCGCTGTGGTTGTGGGCCTGGTGGCCTAC
ATTGCCTTCAAGAGGTGGAACAGCTGCAAACAGGACAAGCAAGGCGCCAACAGCCG
GCCCGTGAACCAGACGCCCCCGCCCGAGGGAGAAAAGCTCCACAGTGACAGTGGCA
TCTCTGTGGACAGCCAGAGCCTGCATGACCAGCAGTCCCACACGCAGACGGCCGCC
GGCCAGGCCCTCAAGGGGGACGGAGGTCTCTACAGCAGCCTGCCGTCAGCCAAGCG
GGAGGAGGTAGAGAAACTGCTCAACGGCTCTGCGGGGGACACGTGGCGGCACCTGG
CGGGCGAGCTGGGCTACCAGCCTGAGCACATAGACTCCTTCACCCGCGAGGCCTGC
CCAGCCCGGGCCCTGCTCGCCAGCTGGGCCGCCCAGGACAGCGCGACGCTCGACGC
CCTCCTGGCCGCCCTGCGCCGCATCCAGCGGGCCGACATCGTCGAGAGCCTGTGCAG
CGAGTCCACGGCCACGTCCCCGGTGTGA

La secuencia líder está subrayada.

Proteína p75NTR equina (SEQ ID NO:5)
KEVCPTDLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACQVCEAGSGLVFSCQDKQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPSRWITRATPPE
GSDSTAPSTQEPEGPPEKDLVASTVADVVTTVMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYCSILAAVV
VGLVAYIAFKRWNSCKQNKQGANSRPVNQTPPPEGEKLHSDSGISVDSQSLHDQQPHTQ
TAAGQALKGDGGLYSSLPLAKREEVEKLLNGSAGDTWRHLAGLVGQGLLRLELVSVFQ
GPAHGGMLPPATPSLQAPVWLGPEGCSEKWDQRGNAARRAGLRVWPMEGLSQV

ECD está subrayado.

Secuencia de ácido nucleico p75NTR equino (SEQ ID NO:6)
ATGAGGGCAGGTGCCGCCGACTGCGCCATGGACGGACCGCGCCTTCTGCTGCTGCTT
CTGCTCTTGGGGGTGTGCCTGCTGGGAGGTGCCAAGGAGGTGTGCCCCACAGACCTG
TACACCCACAGCGGCGAGTGCTGCAAAGCCTGCAACCTGGGCGAGGGTGTGGCCCA
GCCTTGCGGAGCCAACCAGACTGTGTGTGAACCCTGCCTGGACAGCGTGACGTTCTC
GGACGTGGTGAGCGCCACAGAGCCATGTAAGCCGTGCACCGAGTGCGTGGGCCTGC
AGAGCATGTCGGCGCCATGCGTGGAGGCCGACGACGCGGTGTGCCGCTGCGCCTAT
GGCTACTACCAGGACGAGACGACGGGCCGCTGCGAGGCGTGCCAGGTGTGCGAGGC
GGGCTCGGGCCTCGTGTTCTCGTGCCAGGACAAGCAGAACACCGTGTGCGAGGAAT
GCCCCGACGGCACGTACTCCGACGAGGCCAACCACGTGGACCCGTGCCTGCCCTGC
ACCGTGTGCGAGGACACCGAGCGCCAGCTGCGAGAGTGCACGCGCTGGGCCGACGC

CGAGTGCGAGGAGATCCCCAGCCGTTGGATTACACGGGCCACGCCGCCGGAGGGCT
CAGACAGCACTGCCCCCAGCACCCAGGAGCCCGAGGGACCTCCAGAGAAAGACCTT
GTAGCCAGCACGGTGGCGGATGTGGTGACCACAGTGATGGGCAGCTCTCAGCCCGT
GGTGACCCGAGGCACCACGGACAACCTCATCCCCGTCTATTGCTCCATCCTGGCCGC
TGTGGTTGTGGGCCTTGTGGCCTACATCGCCTTCAAGAGGTGGAACAGCTGCAAGCA
GAACAAGCAAGGAGCCAACAGCCGACCCGTGAACCAGACACCACCACCCGAGGGA
GAAAAACTCCACAGCGACAGCGGCATCTCTGTGGACAGCCAGAGCCTGCATGACCA
GCAGCCTCACACACAGACAGCCGCAGGCCAGGCCCTCAAGGGAGATGGAGGCCTCT
ACAGCAGCCTGCCACTGGCCAAGAGGGAAGAGGTGGAGAAGCTACTCAATGGCTCC
GCAGGGGACACCTGGCGGCACCTGGCGGGTGAGCTGGGCTACCAGCCCGAGCACAT
AGACTCCTTCACCCACGAGGCCTGCCCCGTCCGCGCCCTGCTTGCCAGCTGGGCCGC
CCAGGACAGTGCGACATTCGATGCCCTCCTGACCGCCCTGCGCCGCATCCAGCGAGC
CGACATTGTCGAGAGCCTGTGCAGCGAGTCCACCGCCACATCCCCGGTGTGA

La secuencia líder está subrayada.

ECD de proteína p75NTR canina (SEQ NO:7)
KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDRQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGRWITRSTPSE
DSDSTAPSTEEPELPPDQEIIASTMADVVTTVM**GSSQPVVTRGTADN**

La región wt ECD incluye la región peduncular (subrayada) y la escisión de alfa y gamma secretasa 3' de la región peduncular (en negrita).

Secuencia de ácido nucleico de p75NTR ECD canino (SEQ ID NO:8)
AAGGAGGCATGTCCCACTGGCCTGTACACCCACAGCGGCGAGTGCTGCAAAGCCTG
CAATCTGGGTGAGGGGGTGGCCCAGCCTTGCGGAGCCAACCAGACCGTGTGTGAGC
CCTGCCTGGACAGCGTGACCTTCTCGGACGTGGTGAGCGCCACCGAGCCGTGCAAG
CCGTGCACCGAGTGCGTGGGGCTGCAGAGCATGTCGGCGCCGTGCGTGGAGGCGGA
CGACGCCGTGTGCCGCTGCGCCTACGGCTACTACCAGGACGAGACGACGGGCCGCT
GCGAGGCGTGCCGCGTGTGCGAGGCGGGCTCGGGGCTCGTGTTCTCGTGCCAGGAC
AGGCAGAACACCGTGTGCGAGGAGTGTCCCGACGGCACGTACTCCGACGAGGCCAA
CCACGTGGACCCGTGCCTGCCCTGCACCGTGTGCGAGGACACCGAGCGCCAGCTGC
GCGAGTGCACGCGCTGGGCCGACGCCGAGTGCGAGGAGATCCCTGGCCGTTGGATT
ACCCGGTCCACACCCTCAGAGGACTCGGACAGCACCGCCCCCAGCACAGAGGAGCC
AGAGCTACCTCCAGATCAAGAAATCATAGCCAGCACCATGGCAGATGTGGTGACCA
CAGTGATGGGCAGCTCTCAGCCTGTAGTGACCCGAGGAACCGCTGACAAC

Proteína de la región peduncular del ECD de p75NTR canino (SEQ ID NO:9)
WITRSTPSEDSDSTAPSTEEPELPPDQEIIASTMADVVTTVM

Secuencia de ácidos nucleicos de la región peduncular del ECD de p75NTR canino (SEQ ID NO:10)
TGGATTACCCGGTCCACACCCTCAGAGGACTCGGACAGCACCGCCCCCAGCACAGA
GGAGCCAGAGCTACCTCCAGATCAAGAAATCATAGCCAGCACCATGGCAGATGTGG
TGACCACAGTGATG

p75NTR ECD canino – proteína de fusión IgGB wt Fc canina (SEQ ID NO:11)
MEWSWVFLFFLSVTTGVHSKEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPC
LDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEAC
RVCEAGSGLVFSCQDRQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRW
ADAECEEIP**GGGG**RENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFPPKPKDTLLIARTPEVTC
VVVDLDPEDPEVQISWFVDGKQMQTAKTQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQF
TCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDVE
WQSNGQQEPESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHY
TQKSLSHSPGK

Péptido señal - p75-ECD canina - Enlazador **GGGG** - Fc-B-wt canino

p75NTR ECD canino – secuencia de ácidos nucleicos IgGB wt Fc canina (SEQ ID NO:12)
ATGGAATGGTCCTGGGTGTTCCTGTTCTTCCTGTCCGTGACCACCGGCGTGCACTCCA
AAGAGGCTTGTCCTACCGGCCTGTACACCCACTCTGGCGAGTGTTGCAAGGCCTGTA
ATCTCGGCGAAGGCGTGGCACAACCTTGTGGCGCTAATCAGACAGTGTGCGAGCCTT
GCCTGGACTCCGTGACCTTCTCTGATGTGGTGTCTGCCACCGAGCCATGCAAGCCTT
GTACCGAGTGTGTGGGCCTGCAGTCCATGTCTGCCCCTTGTGTGGAAGCCGACGACG
CCGTGTGTAGATGTGCCTACGGCTACTACCAGGACGAGACAACCGGAAGATGCGAG
GCCTGCAGAGTGTGTGAAGCTGGCTCTGGACTGGTGTTCTCCTGCCAAGACAGACAG
AACACCGTGTGCGAGGAATGCCCTGACGGCACCTACTCTGATGAGGCCAATCACGT
GGACCCCTGCCTGCCTTGTACTGTGTGCGAAGATACCGAGCGGCAGCTGCGCGAGT
GTACCAGATGGGCTGATGCCGAGTGCGAAGAGATCCCTGGAGGTGGCGGACGCGAG
AATGGCAGAGTGCCTAGACCTCCTGACTGCCCTAAGTGCCCTGCTCCTGAAATGCTC
GGCGGACCCTCCGTGTTCATCTTCCCACCTAAGCCTAAGGACACCCTGCTGATCGCT
CGGACCCCTGAAGTGACATGCGTGGTGGTGGATCTGGACCCCGAGGATCCTGAGGT
GCAGATCAGTTGGTTCGTGGACGGCAAGCAGATGCAGACCGCTAAGACCCAGCCTA
GAGAGGAACAGTTCAACGGCACCTACAGAGTGGTGTCTGTGCTGCCTATCGGCCAC
CAGGATTGGCTGAAGGGCAAGCAGTTTACCTGCAAAGTGAACAACAAGGCCCTGCC
TTCTCCAATCGAGCGGACCATCTCTAAGGCCAGAGGCCAGGCTCATCAGCCTTCCGT
GTATGTCCTGCCACCTAGCCGCGAGGAACTGTCCAAGAACACCGTGTCTCTGACCTG
CCTGATCAAGGACTTCTTCCCTCCTGACATCGACGTGGAATGGCAGTCCAACGGCCA
GCAAGAGCCCGAGTCTAAGTACCGGACAACCCCTCCACAGCTGGACGAGGACGGCT
CCTACTTCCTGTACTCCAAGCTGTCCGTGGACAAGTCTCGGTGGCAGAGAGGCGACA
CCTTCATCTGTGCTGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCC
TGTCTCACTCCCCTGGCAAGTGA

La secuencia líder está subrayada.

p75NTR ECD canino – proteína de fusión Fc YTE canina (SEQ ID NO:13)
MEWSWVFLFFLSVTTGVHSKEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPC
LDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEAC
RVCEAGSGLVFSCQDRQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRW
ADAECEEIP**GGGG**RENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFPPKPKDTL**Y**I**T**R**E**PEVTC
VVVDLDPEDPEVQISWFVDGKQMQTAKTQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQF
TCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDVE
WQSNGQQEPESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHY
TQKSLSHSPGK

Péptido señal - p75-ECD canina - Enlazador **GGGG** - Fc-B-**YTE** canino

p75NTR ECD canino - secuencia de ácidos nucleicos Fc YTE (SEQ ID NO:14)
ATGGAATGGTCCTGGGTGTTCCTGTTCTTCCTGTCCGTGACCACCGGCGTGCACTCCA
AAGAGGCTTGTCCTACCGGCCTGTACACCCACTCTGGCGAGTGTTGCAAGGCCTGTA
ATCTCGGCGAAGGCGTGGCACAACCTTGTGGCGCTAATCAGACAGTGTGCGAGCCTT
GCCTGGACTCCGTGACCTTCTCTGATGTGGTGTCTGCCACCGAGCCATGCAAGCCTT
GTACCGAGTGTGTGGGCCTGCAGTCCATGTCTGCCCCTTGTGTGGAAGCCGACGACG
CCGTGTGTAGATGTGCCTACGGCTACTACCAGGACGAGACAACCGGAAGATGCGAG
GCCTGCAGAGTGTGTGAAGCTGGCTCTGGACTGGTGTTCTCCTGCCAAGACAGACAG
AACACCGTGTGCGAGGAATGCCCTGACGGCACCTACTCTGATGAGGCCAATCACGT
GGACCCCTGCCTGCCTTGTACTGTGTGCGAAGATACCGAGCGGCAGCTGCGCGAGT
GTACCAGATGGGCTGATGCCGAGTGCGAAGAGATCCCTGGAGGTGGCGGACGCGAG
AATGGCAGAGTGCCTAGACCTCCTGACTGCCCTAAGTGCCCTGCTCCTGAAATGCTC
GGCGGACCCTCCGTGTTCATCTTCCCACCTAAGCCTAAGGACACCCTGTATATCACT
CGGGAACCTGAAGTGACATGCGTGGTGGTGGATCTGGACCCCGAGGATCCTGAGGT
GCAGATCAGTTGGTTCGTGGACGGCAAGCAGATGCAGACCGCTAAGACCCAGCCTA
GAGAGGAACAGTTCAACGGCACCTACAGAGTGGTGTCTGTGCTGCCTATCGGCCAC
CAGGATTGGCTGAAGGGCAAGCAGTTTACCTGCAAAGTGAACAACAAGGCCCTGCC
TTCTCCAATCGAGCGGACCATCTCTAAGGCCAGAGGCCAGGCTCATCAGCCTTCCGT
GTATGTCCTGCCACCTAGCCGCGAGGAACTGTCCAAGAACACCGTGTCTCTGACCTG
CCTGATCAAGGACTTCTTCCCTCCTGACATCGACGTGGAATGGCAGTCCAACGGCCA
GCAAGAGCCCGAGTCTAAGTACCGGACAACCCCTCCACAGCTGGACGAGGACGGCT
CCTACTTCCTGTACTCCAAGCTGTCCGTGGACAAGTCTCGGTGGCAGAGAGGCGACA
CCTTCATCTGTGCTGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCC
TGTCTCACTCCCCTGGCAAGTGA

La secuencia líder está subrayada.

IgG-A (SEQ ID NO:15)
MEFVLGWVFLVAILQGVQGEVQLVESGGDLVKPAGSLRLSCVASGFTFSNNAMNWVR
QAPGKGLQWVAGINSGGSTASADAVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLTAEDTAVYYC
AKVIGNWIATSDLDYWGQGTLVIVSSASTTAPSVFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFP
EPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVPSSRWPSETFTCNVVHPASNTKV
DKPVFNECRCTDTPPCPVPEPLGGPSVLIFPPKPKDILRITRTPEVTCVVLDLGREDPEVQI
SWFVDGKEVHTAKTQSREQQFNGTYRVVSVLPIEHQDWLTGKEFKCRVNHIDLPSPIER
TISKARGRAHKPSVYVLPPSPKELSSSDTVSITCLIKDFYPPDIDVEWQSNGQQEPERKHR
MTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQQGDPFTCAVMHETLQNHYTDLSLSHSPGK

IgG-B (SEQ ID NO:16)
MEFVLGWVFLVAILQGVQGEVQLVESGGDLVKPAGSLRLSCVASGFTFSNNAMNWVR
QAPGKGLQWVAGINSGGSTASADAVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLTAEDTAVYYC
AKVIGNWIATSDLDYWGQGTLVIVSSASTTAPSVFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFP
EPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVPSSRWPSETFTCNVAHPASKTKV
DKPVPKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFPPKPKDTLLIARTPEVTCVVVDLDP
EDPEVQISWFVDGKQMQTAKTQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTCKVNN
KALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDVEWQSNGQ

QEPESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQKSLSH
SPGK

IgG-C (SEQ ID NO:17)
MEFVLGWVFLVAILQGVQGEVQLVESGGDLVKPAGSLRLSCVASGFTFSNNAMNWVR
QAPGKGLQWVAGINSGGSTASADAVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLTAEDTAVYYC
AKVIGNWIATSDLDYWGQGTLVIVSSASTTAPSVFPLAPSCGSQSGSTVALACLVSGYIP
EPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSILQSSGLYSLSSMVTVPSSRWPSETFTCNVAHPATNTKV
DKPVVKECECKCNCNNCPCPGCGLLGGPSVFIFPPKPKDILVTARTPTVTCVVVDLDPEN
PEVQISWFVDSKQVQTANTQPREEQSNGTYRVVSVLPIGHQDWLSGKQFKCKVNNKAL
PSPIEEIISKTPGQAHQPNVYVLPPSRDEMSKNTVTLTCLVKDFFPPEIDVEWQSNGQQEP
ESKYRMTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQKSLSHSP GK

IgG-D (SEQ ID NO:18)
MEFVLGWVFLVAILQGVQGEVQLVESGGDLVKPAGSLRLSCVASGFTFSNNAMNWVR
QAPGKGLQWVAGINSGGSTASADAVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLTAEDTAVYYC
AKVIGNWIATSDLDYWGQGTLVIVSSASSTAPSVFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFP
EPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLKSSGLYSLSSMVTVPSSRLPSETFTCNVVHPATNTKV
DKPVPKESTCKCISPCPVPESLGGPSVFIFPPKPKDILRITRTPEVTCVVLDLGREDPEVQIS
WFVDGKEVHTAKTQPREQQFNSTYRVVSVLPIEHQDWLTGKEFKCRVNHIGLPSPIERTI
SKARGQAHQPGVYVLPPSPKELSSSDTVTLTCLIKDFFPPEIDVEWQSNGQPEPESKYHT
TAPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQQGDPFTCAVMHEALQNHYTDLSLSHSPGK

Región constante DOGA (SEQ ID NO:19)
FNECRCTDTPPCPVPEPLGGPSVLIFPPKPKDILRITRTPEVTCVVLDLGREDPEVQISWFV
DGKEVHTAKTQSREQQFNGTYRVVSVLPIEHQDWLTGKEFKCRVNHIDLPSPIERTISKA
RGRAHKPSVYVLPPSPKELSSSDTVSITCLIKDFYPPDIDVEWQSNGQQEPERKHRMTPP
QLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQQGDPFTCAVMHETLQNHYTDLSLSHSPGK

Región constante DOGB (SEQ ID NO:20)
RENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFPPKPKDTLLIARTPEVTCVVVDLDPEDPEVQI
SWFVDGKQMQTAKTQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSPIE
RTISKARGQAHQPSVYVLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDVEWQSNGQQEPESKY
RTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQKSLSHSPGK

Región constante DOGB-YTE (SEQ ID NO:21)
RENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDLDPEDPEVQI
SWFVDGKQMQTAKTQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSPIE
RTISKARGQAHQPSVYVLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDVEWQSNGQQEPESKY
RTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQKSLSHSPGK

Región constante DOGC (SEQ ID NO:22)
ECECKCNCNNCPCPGCGLLGGPSVFIFPPKPKDILVTARTPTVTCVVVDLDPENPEVQIS
WFVDSKQVQTANTQPREEQSNGTYRVVSVLPIGHQDWLSGKQFKCKVNNKALPSPIEEI
ISKTPGQAHQPNVYVLPPSRDEMSKNTVTLTCLVKDFFPPEIDVEWQSNGQQEPESKYR
MTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQKSLSHSPGK

Región constante DOGD (SEQ ID NO:23)

ESTCKCISPCPVPESLGGPSVFIFPPKPKDILRITRTPEVTCVVLDLGREDPEVQISWFVDG
KEVHTAKTQPREQQFNSTYRVVSVLPIEHQDWLTGKEFKCRVNHIGLPSPIERTISKARG
QAHQPGVYVLPPSPKELSSSDTVTLTCLIKDFFPPEIDVEWQSNGQPEPESKYHTTAPQLD
EDGSYFLYSKLSVDKSRWQQGDPFTCAVMHEALQNHYTDLSLSHSPGK

Región constante CAT_IGG1V1 (SEQ ID NO:24)
TDHPPGPKPCDCPKCPPPEMLGGPSIFIFPPKPKDTLSISRTPEVTCLVVDLGPDDSDVQIT
WFVDNTQVYTAKTSPREEQFNSTYRVVSVLPILHQDWLKGKEFKCKVNSKSLPSPIERTI
SKAKGQPHEPQVYVLPPAQEELSRNKVSVTCLIKSFHPPDIAVEWEITGQPEPENNYRTT
PPQLDSDGTYFVYSKLSVDRSHWQRGNTYTCSVSHEALHSHHTQKSLTQSPGK

Región constante CAT_IGG1V2 (SEQ ID NO:25)
TDHPPGPKPCDCPKCPPPEMLGGPSIFIFPPKPKDTLSISRTPEVTCLVVDLGPDDSDVQIT
WFVDNTQVYTAKTSPREEQFNSTYRVVSVLPILHQDWLKGKEFKCKVNSKSLPSPIERTI
SKAKGQPHEPQVYVLPPAQEELSRNKVSVTCLIKSFHPPDIAVEWEITGQPEPENNYRTT
PPQLDSDGTYFVYSKLSVDRSHWQRGNTYTCSVSHEALHSHHTQKSLTQSPGK

Región constante CAT_IGG2 (SEQ ID NO:26)
KTASTIESKTGEGPKCPVPEIPGAPSVFIFPPKPKDTLSISRTPEVTCLVVDLGPDDSNVQIT
WFVDNTEMHTAKTRPREEQFNSTYRVVSVLPILHQDWLKGKEFKCKVNSKSLPSAMER
TISKAKGQPHEPQVYVLPPTQEELSENKVSVTCLIKGFHPPDIAVEWEITGQPEPENNYQT
TPPQLDSDGTYFLYSRLSVDRSHWQRGNTYTCSVSHEALHSHHTQKSLTQSPGK

Región constante HORSE_IGHG1 (SEQ ID NO:27)
VIKECNGGCPAECLQVGPSVFIFPPKPKDVLMISRTPTVTCVVVDVGHDFPDVQFNWYV
DGVETHTATTEPKQEQFNSTYRVVSVLPIQHKDWLSGKEFKCKVNNKALPAPVERTISK
PTGQPREPQVYVLAPHRDELSKNKVSVTCLVKDFYPTDIDIEWKSNGQPEPETKYSTTPA
QLDSDGSYFLYSKLTVETNRWQQGTTFTCAVMHEALHNHYTEKSVSKSPGK

Región constante HORSE_IGHG2 (SEQ ID NO:28)
CVLSAEGVIPIPSVPKPQCPPYTHSKFLGGPSVFIFPPNPKDALMISRTPVVTCVVVNLSDQ
YPDVQFSWYVDNTEVHSAITKQREAQFNSTYRVVSVLPIQHQDWLSGKEFKCSVTNVG
VPQPISRAISRGKGPSRVPQVYVLPPHPDELAKSKVSVTCLVKDFYPPDISVEWQSNRWP
ELEGKYSTTPAQLDGDGSYFLYSKLSLETSRWQQVESFTCAVMHEALHNHFTKTDISES
LGK

Región constante HORSE_IGHG3 (SEQ ID NO:29)
TTPPCPCECPKCPAPELLGGPSVFIFPPKPKDVLMITRTPEVTCLVVDVSHDSSDVLFTWY
VDGTEVKTAKTMPNEEQNNSTYRVVSVLRIQHQDWLNGKKFKCKVNNQALPAPVERTI
SKATGQTRVPQVYVLAPHPDELSKNKVSVTCLVKDFLPTDITVEWQSNEHPEPEGKYRT
TEAQKDSDGSYFLYSKLTVETDRWQQGTTFTCVVMHEALHNHVMQKNVSHSPGK

Región constante HORSE_IGHG4 (SEQ ID NO:30)
VIKECNGGCPAECLQVGPSVFIFPPKPKDVLMISRTPTVTCVVVDVGHDFPDVQFNWYV
DGVETHTATTEPKQEQFNSTYRVVSVLPIQHKDWLSGKEFKCKVNNKALPAPVERTISK
PTGQPREPQVYVLAPHRDELSKNKVSVTCLVKDFYPTDIDIEWKSNGQPEPETKYSTTPA
QLDSDGSYFLYSKLTVETNRWQQGTTFTCAVMHEALHNHYTEKSVSKSPGK

Región constante HORSE_IGHG5 (SEQ ID NO:31)
VVKGSPCPKCPAPELPGGPSVFIFPPKPKDVLKISRKPEVTCVVVDLGHDDPDVQFTWFV
DGVETHTATTEPKEEQFNSTYRVVSVLPIQHQDWLSGKEFKCSVTNKALPAPVERTTSK
AKGQLRVPQVYVLAPHPDELAKNTVSVTCLVKDFYPPEIDVEWQSNEHPEPEGKYSTTP
AQLNSDGSYFLYSKLSVETSRWKQGESFTCGVMHEAVENHYTQKNVSHSPGK

Región constante HORSE_IGHG6 (SEQ ID NO:32)
KEPCCCPKCPGRPSVFIFPPNPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQENPDVKFNWYVDGVEA
HTATTKAKEKQDNSTYRVVSVLPIQHQDWRRGKEFKCKVNNRALPAPVERTITKAKGE
LQDPKVYILAPHREEVTKNTVSVTCLVKDFYPPDINVEWQSNEEPEPEVKYSTTPAQLD
GDGSYFLYSKLTVETDRWEQGESFTCVVMHEAIRHTYRQKSITNFPGK

Región constante HORSE_IGHG7 (SEQ ID NO:33)
VIKECGGCPTCPECLSVGPSVFIFPPKPKDVLMISRTPTVTCVVVDVGHDFPDVQFNWYV
DGVETHTATTEPKQEQNNSTYRVVSILAIQHKDWLSGKEFKCKVNNQALPAPVQKTISK
PTGQPREPQVYVLAPHRDELSKNKVSVTCLVKDFYPTDIDIEWKSNGQPEPETKYSTTPA
QLDSDGSYFLYSKLTVETNRWQQGTTFTCAVMHEALHNHYTEKSVSKSPGK

Porción de ECD canino (sin pedúnculo y sin escisión de alfa y gamma secretasa 3' de la región peduncular) que puede usarse en las construcciones de fusión con mutaciones descritas en este documento (SEQ ID NO:34)
KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDRQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIP

Repetición en tándem de la porción de ECD canino (sin pedúnculo y sin escisión de alfa y gamma secretasa 3' de la región peduncular) que puede usarse en las construcciones de fusión con mutaciones descritas en este documento (SEQ ID NO:117)
KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDRQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPKEACPTGLYTH
SGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAP
CVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDRQNTVCEECPDGTYS
DEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIP

Secuencia de ácidos nucleicos de p75NTR ECD canino como se usa en las construcciones de fusión (que codifica solo los primeros dos aminoácidos pedunculares GR y sin escisión de alfa y gamma secretasa 3' de la región peduncular) (SEQ ID NO:35)
AAGGAGGCATGTCCCACTGGCCTGTACACCCACAGCGGCGAGTGCTGCAAAGCCTG
CAATCTGGGTGAGGGGGTGGCCCAGCCTTGCGGAGCCAACCAGACCGTGTGTGAGC
CCTGCCTGGACAGCGTGACCTTCTCGGACGTGGTGAGCGCCACCGAGCCGTGCAAG
CCGTGCACCGAGTGCGTGGGGCTGCAGAGCATGTCGGCGCCGTGCGTGGAGGCGGA
CGACGCCGTGTGCCGCTGCGCCTACGGCTACTACCAGGACGAGACGACGGGCCGCT
GCGAGGCGTGCCGCGTGTGCGAGGCGGGCTCGGGGCTCGTGTTCTCGTGCCAGGAC
AGGCAGAACACCGTGTGCGAGGAGTGTCCCGACGGCACGTACTCCGACGAGGCCAA
CCACGTGGACCCGTGCCTGCCCTGCACCGTGTGCGAGGACACCGAGCGCCAGCTGC
GCGAGTGCACGCGCTGGGCCGACGCCGAGTGCGAGGAGATCCCTGGCCGT

Proteína p75 NTR bovina (SEQ NO:36)
KEACLTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGRWITRATPPE
GSDSTDPSTQEPEVPPEQDLVTSTVSDVVTTVMGSSQPVVTRGTADNLIPVYCSILAAVV
VGLVAYIAFKRWNSCKQNKQGANSRPVNQTPPPEGEKLHSDSGISVDSQSLHDQQPHTQ
TAAGQALKGDGGLYSSLPLAKREEVEKLLNGSAGDTWRHLAGELGYQPEHIDSFTHEA
CPARALLASWAAQDSATLDTLLAALRRIQRADLVESLCSESTATSPV

ECD está subrayado.

Ácido nucleico de p75 NTR bovino (SEQ ID NO:37)
ATGGGGTCAGGTGCCGCCGGCCGCGCCATGGACGGGCCGCGCCTGCTGCTGCTGCT
GCTGCTGCTCCTGGGGGTGTCCCTTGGAGGTGCCAAGGAAGCATGCCTCACGGGCCT
GTACACCCACAGCGGAGAGTGCTGCAAAGCCTGCAACCTGGGCGAGGGTGTGGCCC
AGCCTTGTGGAGCCAACCAGACCGTGTGTGAACCCTGCCTGGACAGCGTGACCTTCT
CGGACGTGGTGAGCGCCACGGAGCCGTGTAAGCCGTGCACGGAGTGCGTGGGACTG
CAGAGCATGTCGGCGCCCTGCGTGGAGGCCGACGACGCCGTGTGCCGCTGCGCCTA
CGGCTATTACCAGGACGAGACGACCGGCCGCTGCGAGGCGTGCCGCGTGTGCGAGG
CGGGCTCGGGGCTCGTGTTCTCGTGCCAGGACAAGCAGAACACCGTCTGCGAGGAG
TGCCCCGACGGCACGTACTCCGACGAGGCCAACCACGTGGACCCCTGCCTGCCCTGC
ACGGTGTGCGAGGACACGGAGCGCCAGCTGCGCGAGTGCACGCGCTGGGCCGACGC
CGAGTGCGAGGAGATCCCTGGACGTTGGATTACACGGGCCACGCCCCCTGAGGGCT
CCGACAGCACAGACCCCAGCACCCAGGAGCCCGAGGTACCTCCAGAGCAAGATCTG
GTAACCAGCACTGTGTCAGATGTGGTGACCACGGTGATGGGCAGCTCCCAGCCTGTG
GTGACCCGAGGTACCGCCGACAACCTCATCCCTGTCTATTGCTCCATCCTGGCTGCT
GTGGTTGTGGGCCTTGTGGCCTACATCGCCTTCAAGAGGTGGAACAGCTGCAAGCAG
AACAAGCAAGGAGCCAACAGCCGACCTGTGAACCAGACACCCCCACCAGAGGGGG
AAAAGCTACACAGCGATAGCGGCATCTCTGTGGACAGCCAGAGCCTGCATGACCAG
CAGCCCCACACGCAGACTGCCGCAGGCCAGGCCCTCAAGGGTGATGGAGGCCTCTA
CAGCAGCCTGCCGCTGGCCAAGCGGGAGGAGGTGGAGAAGCTGCTCAACGGCTCTG
CGGGGGACACCTGGCGGCATCTGGCAGGCGAGTTGGGTTACCAGCCTGAGCACATA
GACTCCTTCACCCACGAGGCCTGCCCAGCCCGCGCCCTGCTGGCCAGCTGGGCTGCC
CAGGACAGCGCCACGCTCGACACCCTCCTTGCGGCCCTGCGCCGCATCCAGCGCGCC
GACATCGTGGAGAGCCTGTGCAGCGAGTCCACGGCCACGTCCCCCGTGTGA

ECD de proteína p75NTR felina (SEQ NO:38)
KEACPTGLFTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDRQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGRWITRSTPSE
GSDSTAPSTEEPEVPPEQDLIASTVADVVTTVMGSSQPVVTRGTADN

p75NTR ECD felino – proteína de fusión IgG2 wt Fc felina (SEQ ID NO:39)
MDGPRPLLLLLPLLLGVSLGGAKEACPTGLFTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVC
EPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRC
EACRVCEAGSGLVFSCQDRQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECT
RWADAECEEIPGR**GGGG**VPKTASTIESKTCDCPKCPVPEIPGAPSVFIFPPKPKDTLSISRT

PEVTCLVVDLGPDDSNVQITWFVDNTEMHTAKTRPREEQFNSTYRVVSVLPILHQDWL
KGKEFKCKVSKSLPSAMERTISKAKGQPHEPQVYVLPPTQEELSENKVSVTCLIKGFHPP
DIAVEWEITGQPEPENNYQTTPPQLDSDGTYFLYSRLSVDRSHWQRGNTYTCSVSHEAL
HSHHTQKSLTQSPGK

Péptido señal - p75-ECD felina - Enlazador **GGGG** - Fc-IgG2 felina

p75NTR ECD felino – secuencia de ácidos nucleicos IgG2 wt Fc felina (SEQ ID NO:40)
ATGGATGGACCTAGACCTCTGCTGCTGCTCCTGCCTCTGCTGTTGGGAGTTTCTCTCG
GCGGAGCCAAAGAGGCTTGTCCTACCGGCCTGTTTACCCACTCTGGCGAGTGTTGCA
AGGCCTGTAATCTCGGCGAAGGCGTGGCACAACCTTGTGGCGCTAATCAGACAGTG
TGCGAGCCTTGCCTGGACTCCGTGACCTTCTCTGATGTGGTGTCTGCCACCGAGCCA
TGCAAGCCTTGTACCGAGTGTGTGGGCCTGCAGTCCATGTCTGCCCCTTGTGTGGAA
GCCGACGACGCCGTGTGTAGATGTGCCTACGGCTACTACCAGGACGAGACAACCGG
AAGATGCGAGGCCTGCAGAGTGTGTGAAGCTGGCTCTGGACTGGTGTTCTCCTGCCA
AGACAGACAGAACACCGTGTGCGAGGAATGCCCTGACGGCACCTACTCTGATGAGG
CCAATCACGTGGACCCCTGCCTGCCTTGTACTGTGTGCGAAGATACCGAGCGGCAGC
TGCGCGAGTGTACCAGATGGGCTGATGCCGAGTGCGAAGAGATCCCTGGAAGAGGC
GGAGGCGGAGTGCCTAAGACCGCTTCTACCATCGAGTCCAAGACCTGCGACTGCCC
TAAGTGCCCTGTGCCTGAAATTCCTGGCGCTCCCTCCGTGTTCATCTTCCCACCTAAG
CCTAAGGACACCCTGTCCATCTCTCGGACCCCTGAAGTGACCTGCCTGGTGGTTGAT
CTGGGCCCTGACGACTCCAACGTGCAGATCACTTGGTTTGTGGACAACACCGAGATG
CACACCGCCAAGACCAGACCTAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTACAGAGTGGT
GTCCGTGCTGCCCATCCTGCACCAGGATTGGCTGAAGGGCAAAGAATTCAAGTGCA
AAGTGAACTCCAAGAGCCTGCCTTCCGCCATGGAACGGACCATCTCTAAGGCTAAG
GGCCAGCCTCATGAGCCCCAGGTGTACGTTCTGCCTCCTACACAAGAGGAACTGTCC
GAGAACAAAGTGTCCGTGACATGCCTGATCAAGGGCTTTCACCCTCCTGATATCGCC
GTGGAATGGGAGATCACCGGACAGCCTGAGCCTGAGAACAACTACCAGACCACACC
TCCTCAGCTGGACAGCGACGGAACCTACTTCCTGTACTCCCGGCTGTCCGTGGACAG
ATCCCATTGGCAGAGAGGCAACACCTACACCTGTTCCGTGTCTCACGAGGCCCTGCA
CTCTCATCACACCCAGAAGTCCCTGACACAGTCCCCTGGCAAG

IgG3 felina (SEQ ID NO:41)
LPPCKCPKCPVPEIPGGPSVFIFPPKPKDTLSISRTPEVTCLVVDLGPDDSNVQITWFVDNT
EMHTAKTRPREEQFNSTYRVVSVLPIVHQDWLTGKEFKCKVNSKALPSAIERTISKAKG
QPHEPQVYVLPPAQEELSENKVCVTCLIKGFYPPDIAVEWEITGQPEPENNYRTTPPQLD
SDGTYFVYSRLSMDRSRWQSGNTYTCSVSHEALHSHHTQKSLTQSPGK

p75NTR ECD felino – proteína de fusión IgG1 wt Fc felina (SEQ ID NO:42)
MDGPRPLLLLLPLLLGVSLGGAKEACPTGLFTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVC
EPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRC
EACRVCEAGSGLVFSCQDRQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECT
RWADAECEEIP**GGGG**VRKTDHPPGPKPCDCPKCPAPEMLGGPSIFIFPPKPKDTLSISRTP
EVTCLVVDLGPDDSDVQITWFVDNTQVYTAKTSPREEQFNSTYRVVSVLPILHQDWLK
GKEFKCKVNSKSLPSPIERTISKAKGQPHEPQVYVLPPAQEELSRNKVSVTCLIKSFHPPDI
AVEWEITGQPEPENNYRTTPPQLDSDGTYFVYSKLSVDRSHWQRGNTYTCSVSHEALHS
HHTQKSLTQSPGK

Péptido señal - p75-ECD felina - Enlazador **GGGG** - Fc-IgG1 felina

p75NTR ECD felino – secuencia de ácidos nucleicos Ig1 wt Fc felina (SEQ ID NO:43)
ATGGATGGCCCTAGACCTCTGCTGCTGCTGTTGCCTCTGCTCCTGGGAGTTTCTCTCG
GCGGAGCCAAAGAGGCTTGTCCTACCGGCCTGTTTACCCACTCTGGCGAGTGTTGCA
AGGCCTGTAATCTCGGCGAAGGCGTGGCACAACCTTGTGGCGCTAATCAGACAGTG
TGCGAGCCTTGCCTGGACTCCGTGACCTTCTCTGATGTGGTGTCTGCCACCGAGCCA
TGCAAGCCTTGTACCGAGTGTGTGGGCCTGCAGTCCATGTCTGCCCCTTGTGTGGAA
GCCGACGACGCCGTGTGTAGATGTGCCTACGGCTACTACCAGGACGAGACAACCGG
AAGATGCGAGGCCTGCAGAGTGTGTGAAGCTGGCTCTGGACTGGTGTTCTCCTGCCA
AGACAGACAGAACACCGTGTGCGAGGAATGCCCTGACGGCACCTACTCTGATGAGG
CCAATCACGTGGACCCCTGCCTGCCTTGTACTGTGTGCGAAGATACCGAGCGGCAGC
TGCGCGAGTGTACCAGATGGGCTGATGCCGAGTGCGAAGAGATTCCTGGCGGAGGC
GGAGTGCGCAAGACAGATCATCCTCCTGGACCTAAGCCTTGCGACTGCCCTAAGTGT
CCCGCTCCTGAAATGCTCGGCGGACCCAGCATCTTCATCTTCCCACCTAAGCCAAAG
GACACCCTGTCCATCTCTCGGACCCCTGAAGTGACCTGCCTGGTGGTTGATCTGGGC
CCTGACGATTCCGACGTGCAGATCACTTGGTTTGTGGACAACACCCAGGTGTACACA
GCCAAGACCTCTCCAAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTACAGAGTGGTGTCCGT
GCTGCCCATCCTGCACCAGGATTGGCTGAAGGGCAAAGAATTCAAGTGCAAAGTGA
ACTCCAAGAGCCTGCCTTCTCCAATCGAGCGGACCATCTCCAAGGCTAAGGGCCAG
CCTCATGAGCCTCAGGTGTACGTTCTGCCTCCTGCTCAAGAGGAACTGTCCCGGAAC
AAAGTGTCTGTGACCTGTCTGATCAAGAGCTTTCACCCTCCTGATATCGCCGTGGAA
TGGGAGATCACCGGACAGCCTGAGCCTGAGAACAACTACCGGACCACACCTCCTCA
GCTGGACAGCGACGGCACATACTTCGTGTACTCCAAGCTGTCCGTGGACAGATCCCA
CTGGCAGCGGGGCAATACCTACACCTGTTCCGTGTCTCACGAGGCCCTGCACTCTCA
TCACACCCAGAAGTCCCTGACACAGTCCCCTGGAAAGTGATGA

p75NTR ECD felino – proteína de fusión IgG3 wt Fc felina (SEQ ID NO:44)
MDGPRPLLLLLPLLLGVSLGGAKEACPTGLFTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVC
EPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRC
EACRVCEAGSGLVFSCQDRQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECT
RWADAECEEIP**GGGG**VLPPCKCPKCPVPEIPGGPSVFIFPPKPKDTLSISRTPEVTCLVVD
LGPDDSNVQITWFVDNTEMHTAKTRPREEQFNSTYRVVSVLPIVHQDWLTGKEFKCKV
NSKALPSAIERTISKAKGQPHEPQVYVLPPAQEELSENKVCVTCLIKGFYPPDIAVEWEIT
GQPEPENNYRTTPPQLDSDGTYFVYSRLSMDRSRWQSGNTYTCSVSHEALHSHHTQKSL
TQSPGK

Péptido señal - p75-ECD felina - Enlazador **GGGG** - Fc-IgG3 felina

p75NTR ECD felino – secuencia de ácidos nucleicos IgG3 wt Fc felina (SEQ ID NO:45)
ATGGATGGCCCTAGACCTCTGCTGCTGCTGTTGCCTCTGCTCCTGGGAGTTTCTCTCG
GCGGAGCCAAAGAGGCTTGTCCTACCGGCCTGTTTACCCACTCTGGCGAGTGTTGCA
AGGCCTGTAATCTCGGCGAAGGCGTGGCACAACCTTGTGGCGCTAATCAGACAGTG
TGCGAGCCTTGCCTGGACTCCGTGACCTTCTCTGATGTGGTGTCTGCCACCGAGCCA
TGCAAGCCTTGTACCGAGTGTGTGGGCCTGCAGTCCATGTCTGCCCCTTGTGTGGAA
GCCGACGACGCCGTGTGTAGATGTGCCTACGGCTACTACCAGGACGAGACAACCGG
AAGATGCGAGGCCTGCAGAGTGTGTGAAGCTGGCTCTGGACTGGTGTTCTCCTGCCA
AGACAGACAGAACACCGTGTGCGAGGAATGCCCTGACGGCACCTACTCTGATGAGG

CCAATCACGTGGACCCCTGCCTGCCTTGTACTGTGTGCGAAGATACCGAGCGGCAGC
TGCGCGAGTGTACCAGATGGGCTGATGCCGAGTGCGAAGAGATTCCTGGCGGAGGC
GGAGTTCTGCCTCCTTGCAAGTGTCCTAAGTGCCCCGTGCCTGAAATCCCTGGCGGC
CCTTCCGTGTTCATCTTCCCACCTAAGCCTAAGGACACCCTGTCCATCTCTCGGACCC
CTGAAGTGACCTGCCTGGTGGTTGATCTGGGCCCTGACGACTCCAACGTGCAGATCA
CTTGGTTTGTGGACAACACCGAGATGCACACCGCCAAGACCAGACCTAGAGAGGAA
CAGTTCAACTCCACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGCCCATCGTGCACCAGGATTGG
CTGACCGGCAAAGAATTCAAGTGCAAAGTGAACAGCAAGGCCCTGCCTTCCGCCAT
CGAGCGGACAATCTCTAAGGCTAAGGGCCAGCCTCACGAGCCCCAGGTTTACGTTTT
GCCTCCTGCTCAAGAGGAACTGTCCGAGAACAAAGTGTGCGTGACCTGTCTGATCAA
GGGCTTCTACCCTCCTGATATCGCCGTGGAATGGGAGATCACCGGACAGCCTGAGCC
TGAGAACAACTACCGGACCACACCTCCTCAGCTGGATTCCGACGGCACATACTTCGT
GTACTCCCGGCTGAGCATGGACAGATCCAGATGGCAGTCCGGCAACACCTACACCT
GTTCCGTGTCTCACGAGGCCCTGCACTCTCATCACACCCAGAAGTCCCTGACACAGT
CCCCTGGCAAG

Variantes

p75NTR ECD E75T canina (SEQ NO:46)
KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEA**T**DAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDRQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGR

p75NTR ECD E75T canina – IgGB wt Fc canina (SEQ ID NO:47)
MEWSWVFLFFLSVTTGVHSKEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPC
LDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEA**T**DAVCRCAYGYYQDETTGRCEAC
RVCEAGSGLVFSCQDRQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRW
ADAECEEIPGR**GGGG**RENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFPPKPKDTLLIARTPEV
TCVVVDLDPEDPEVQISWFVDGKQMQTAKTQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGK
QFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDV
EWQSNGQQEPESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNH
YTQKSLSHSPGK

Péptido señal - p75-ECD canina - Enlazador **GGGG** - Fc-B wt canino

p75NTR ECD E75T canina – secuencia de ácidos nucleicos IgGB wt Fc canina (SEQ ID NO:48)
ATGGAATGGAGCTGGGTGTTTCTGTTTTTTCTGAGCGTGACCACCGGCGTGCATAGC
AAAGAAGCGTGCCCGACCGGCCTGTATACCCATAGCGGCGAATGCTGCAAAGCGTG
CAACCTGGGCGAAGGCGTGGCGCAGCCGTGCGGCGCGAACCAGACCGTGTGCGAAC
CGTGCCTGGATAGCGTGACCTTTAGCGATGTGGTGAGCGCGACCGAACCGTGCAAA
CCGTGCACCGAATGCGTGGGCCTGCAGAGCATGAGCGCGCCGTGCGTGGAAGCGAC
CGATGCGGTGTGCCGCTGCGCGTATGGCTATTATCAGGATGAAACCACCGGCCGCTG
CGAAGCGTGCCGCGTGTGCGAAGCGGGCAGCGGCCTGGTGTTTAGCTGCCAGGATC
GCCAGAACACCGTGTGCGAAGAATGCCCGGATGGCACCTATAGCGATGAAGCGAAC
CATGTGGATCCGTGCCTGCCGTGCACCGTGTGCGAAGATACCGAACGCCAGCTGCG
CGAATGCACCCGCTGGGCGGATGCGGAATGCGAAGAAATTCCGGGCCGCGGCGGCG
GCGGCCGCGAAAACGGCCGCGTGCCGCGCCCGCCGGATTGCCCGAAATGCCCGGCG

CCGGAAATGCTGGGCGGCCCGAGCGTGTTTATTTTTCCGCCGAAACCGAAAGATACC
CTGCTGATTGCGCGCACCCCGGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATCTGGATCCGGAA
GATCCGGAAGTGCAGATTAGCTGGTTTGTGGATGGCAAACAGATGCAGACCGCGAA
AACCCAGCCGCGCGAAGAACAGTTTAACGGCACCTATCGCGTGGTGAGCGTGCTGC
CGATTGGCCATCAGGATTGGCTGAAAGGCAAACAGTTTACCTGCAAAGTGAACAAC
AAAGCGCTGCCGAGCCCGATTGAACGCACCATTAGCAAAGCGCGCGGCCAGGCGCA
TCAGCCGAGCGTGTATGTGCTGCCGCCGAGCCGCGAAGAACTGAGCAAAAACACCG
TGAGCCTGACCTGCCTGATTAAAGATTTTTTTCCGCCGGATATTGATGTGGAATGGC
AGAGCAACGGCCAGCAGGAACCGGAAAGCAAATATCGCACCACCCCGCCGCAGCT
GGATGAAGATGGCAGCTATTTTCTGTATAGCAAACTGAGCGTGGATAAAAGCCGCT
GGCAGCGCGGCGATACCTTTATTTGCGCGGTGATGCATGAAGCGCTGCATAACCATT
ATACCCAGAAAAGCCTGAGCCATAGCCCGGGCAAA

p75NTR ECD S109Y canina (SEQ NO:49)
KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVF**Y**CQDRQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGR

p75NTR ECD S109Y canina – IgGB wt Fc canina (SEQ ID NO:50)
MEWSWVFLFFLSVTTGVHSKEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPC
LDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEAC
RVCEAGSGLVF**Y**CQDRQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRW
ADAECEEIPGR**GGGG**RENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFPPKPKDTLLIARTPEV
TCVVVDLDPEDPEVQISWFVDGKQMQTAKTQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGK
QFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDV
EWQSNGQQEPESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNH
YTQKSLSHSPGK

Péptido señal - p75-ECD canina - Enlazador **GGGG** - Fc-B wt canino

p75NTR ECD S109Y canina – secuencia de ácidos nucleicos IgGB wt Fc canina (SEQ ID NO:51)
ATGGAATGGAGCTGGGTGTTTCTGTTTTTTCTGAGCGTGACCACCGGCGTGCATAGC
AAAGAAGCGTGCCCGACCGGCCTGTATACCCATAGCGGCGAATGCTGCAAAGCGTG
CAACCTGGGCGAAGGCGTGGCGCAGCCGTGCGGCGCGAACCAGACCGTGTGCGAAC
CGTGCCTGGATAGCGTGACCTTTAGCGATGTGGTGAGCGCGACCGAACCGTGCAAA
CCGTGCACCGAATGCGTGGGCCTGCAGAGCATGAGCGCGCCGTGCGTGGAAGCGGA
TGATGCGGTGTGCCGCTGCGCGTATGGCTATTATCAGGATGAAACCACCGGCCGCTG
CGAAGCGTGCCGCGTGTGCGAAGCGGGCAGCGGCCTGGTGTTTTATTGCCAGGATC
GCCAGAACACCGTGTGCGAAGAATGCCCGGATGGCACCTATAGCGATGAAGCGAAC
CATGTGGATCCGTGCCTGCCGTGCACCGTGTGCGAAGATACCGAACGCCAGCTGCG
CGAATGCACCCGCTGGGCGGATGCGGAATGCGAAGAAATTCCGGGCCGCGGCGGCG
GCGGCCGCGAAAACGGCCGCGTGCCGCGCCCGCCGGATTGCCCGAAATGCCCGGCG
CCGGAAATGCTGGGCGGCCCGAGCGTGTTTATTTTTCCGCCGAAACCGAAAGATACC
CTGCTGATTGCGCGCACCCCGGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATCTGGATCCGGAA
GATCCGGAAGTGCAGATTAGCTGGTTTGTGGATGGCAAACAGATGCAGACCGCGAA
AACCCAGCCGCGCGAAGAACAGTTTAACGGCACCTATCGCGTGGTGAGCGTGCTGC
CGATTGGCCATCAGGATTGGCTGAAAGGCAAACAGTTTACCTGCAAAGTGAACAAC

AAAGCGCTGCCGAGCCCGATTGAACGCACCATTAGCAAAGCGCGCGGCCAGGCGCA
TCAGCCGAGCGTGTATGTGCTGCCGCCGAGCCGCGAAGAACTGAGCAAAAACACCG
TGAGCCTGACCTGCCTGATTAAAGATTTTTTTCCGCCGGATATTGATGTGGAATGGC
AGAGCAACGGCCAGCAGGAACCGGAAAGCAAATATCGCACCACCCCGCCGCAGCT
GGATGAAGATGGCAGCTATTTTCTGTATAGCAAACTGAGCGTGGATAAAAGCCGCT
GGCAGCGCGGCGATACCTTTATTTGCGCGGTGATGCATGAAGCGCTGCATAACCATT
ATACCCAGAAAAGCCTGAGCCATAGCCCGGGCAAA

p75NTR ECD S109H canina (SEQ NO:52)
KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVF**H**CQDRQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGR

p75NTR ECD S109H canina – IgGB wt Fc canina (SEQ ID NO:53)
MEWSWVFLFFLSVTTGVHSKEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPC
LDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEAC
RVCEAGSGLVF**H**CQDRQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRW
ADAECEEIPGR**GGGG**RENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFPPKPKDTLLIARTPEV
TCVVVDLDPEDPEVQISWFVDGKQMQTAKTQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGK
QFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDV
EWQSNGQQEPESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNH
YTQKSLSHSPGK

Péptido señal - p75-ECD canina - Enlazador **GGGG** - Fc-B wt canino

p75NTR ECD S109H canina – secuencia de ácidos nucleicos IgGB wt Fc canina (SEQ ID NO:54)
ATGGAATGGAGCTGGGTGTTTCTGTTTTTTCTGAGCGTGACCACCGGCGTGCATAGC
AAAGAAGCGTGCCCGACCGGCCTGTATACCCATAGCGGCGAATGCTGCAAAGCGTG
CAACCTGGGCGAAGGCGTGGCGCAGCCGTGCGGCGCGAACCAGACCGTGTGCGAAC
CGTGCCTGGATAGCGTGACCTTTAGCGATGTGGTGAGCGCGACCGAACCGTGCAAA
CCGTGCACCGAATGCGTGGGCCTGCAGAGCATGAGCGCGCCGTGCGTGGAAGCGGA
TGATGCGGTGTGCCGCTGCGCGTATGGCTATTATCAGGATGAAACCACCGGCCGCTG
CGAAGCGTGCCGCGTGTGCGAAGCGGGCAGCGGCCTGGTGTTTCATTGCCAGGATC
GCCAGAACACCGTGTGCGAAGAATGCCCGGATGGCACCTATAGCGATGAAGCGAAC
CATGTGGATCCGTGCCTGCCGTGCACCGTGTGCGAAGATACCGAACGCCAGCTGCG
CGAATGCACCCGCTGGGCGGATGCGGAATGCGAAGAAATTCCGGGCCGCGGCGGCG
GCGGCCGCGAAAACGGCCGCGTGCCGCGCCCGCCGGATTGCCCGAAATGCCCGGCG
CCGGAAATGCTGGGCGGCCCGAGCGTGTTTATTTTTCCGCCGAAACCGAAAGATACC
CTGCTGATTGCGCGCACCCCGGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATCTGGATCCGGAA
GATCCGGAAGTGCAGATTAGCTGGTTTGTGGATGGCAAACAGATGCAGACCGCGAA
AACCCAGCCGCGCGAAGAACAGTTTAACGGCACCTATCGCGTGGTGAGCGTGCTGC
CGATTGGCCATCAGGATTGGCTGAAAGGCAAACAGTTTACCTGCAAAGTGAACAAC
AAAGCGCTGCCGAGCCCGATTGAACGCACCATTAGCAAAGCGCGCGGCCAGGCGCA
TCAGCCGAGCGTGTATGTGCTGCCGCCGAGCCGCGAAGAACTGAGCAAAAACACCG
TGAGCCTGACCTGCCTGATTAAAGATTTTTTTCCGCCGGATATTGATGTGGAATGGC
AGAGCAACGGCCAGCAGGAACCGGAAAGCAAATATCGCACCACCCCGCCGCAGCT
GGATGAAGATGGCAGCTATTTTCTGTATAGCAAACTGAGCGTGGATAAAAGCCGCT

GGCAGCGCGGCGATACCTTTATTTGCGCGGTGATGCATGAAGCGCTGCATAACCATT
ATACCCAGAAAAGCCTGAGCCATAGCCCGGGCAAA

p75NTR ECD V133R canina (SEQ NO:55)
KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDRQNT
VCEECPDGTYSDEANH**R**DPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGR

p75NTR ECD V133R canina – IgGB wt Fc canina (SEQ ID NO:56)
MEWSWVFLFFLSVTTGVHSKEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPC
LDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEAC
RVCEAGSGLVFSCQDRQNTVCEECPDGTYSDEANH**R**DPCLPCTVCEDTERQLRECTRW
ADAECEEIPGR**GGGG**RENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFPPKPKDTLLIARTPEV
TCVVVDLDPEDPEVQISWFVDGKQMQTAKTQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGK
QFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDV
EWQSNGQQEPESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNH
YTQKSLSHSPGK

Péptido señal - p75-ECD canina - Enlazador **GGGG** - Fc-B wt canino

p75NTR ECD V133R canina – secuencia de ácidos nucleicos IgGB wt Fc canina (SEQ ID NO:57)
ATGGAATGGAGCTGGGTGTTTCTGTTTTTTCTGAGCGTGACCACCGGCGTGCATAGC
AAAGAAGCGTGCCCGACCGGCCTGTATACCCATAGCGGCGAATGCTGCAAAGCGTG
CAACCTGGGCGAAGGCGTGGCGCAGCCGTGCGGCGCGAACCAGACCGTGTGCGAAC
CGTGCCTGGATAGCGTGACCTTTAGCGATGTGGTGAGCGCGACCGAACCGTGCAAA
CCGTGCACCGAATGCGTGGGCCTGCAGAGCATGAGCGCGCCGTGCGTGGAAGCGGA
TGATGCGGTGTGCCGCTGCGCGTATGGCTATTATCAGGATGAAACCACCGGCCGCTG
CGAAGCGTGCCGCGTGTGCGAAGCGGGCAGCGGCCTGGTGTTTAGCTGCCAGGATC
GCCAGAACACCGTGTGCGAAGAATGCCCGGATGGCACCTATAGCGATGAAGCGAAC
CATCGCGATCCGTGCCTGCCGTGCACCGTGTGCGAAGATACCGAACGCCAGCTGCG
CGAATGCACCCGCTGGGCGGATGCGGAATGCGAAGAAATTCCGGGCCGCGGCGGCG
GCGGCCGCGAAAACGGCCGCGTGCCGCGCCCGCCGGATTGCCCGAAATGCCCGGCG
CCGGAAATGCTGGGCGGCCCGAGCGTGTTTATTTTTCCGCCGAAACCGAAAGATACC
CTGCTGATTGCGCGCACCCCGGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATCTGGATCCGGAA
GATCCGGAAGTGCAGATTAGCTGGTTTGTGGATGGCAAACAGATGCAGACCGCGAA
AACCCAGCCGCGCGAAGAACAGTTTAACGGCACCTATCGCGTGGTGAGCGTGCTGC
CGATTGGCCATCAGGATTGGCTGAAAGGCAAACAGTTTACCTGCAAAGTGAACAAC
AAAGCGCTGCCGAGCCCGATTGAACGCACCATTAGCAAAGCGCGCGGCCAGGCGCA
TCAGCCGAGCGTGTATGTGCTGCCGCCGAGCCGCGAAGAACTGAGCAAAAACACCG
TGAGCCTGACCTGCCTGATTAAAGATTTTTTTCCGCCGGATATTGATGTGGAATGGC
AGAGCAACGGCCAGCAGGAACCGGAAAGCAAATATCGCACCACCCCGCCGCAGCT
GGATGAAGATGGCAGCTATTTTCTGTATAGCAAACTGAGCGTGGATAAAAGCCGCT
GGCAGCGCGGCGATACCTTTATTTGCGCGGTGATGCATGAAGCGCTGCATAACCATT
ATACCCAGAAAAGCCTGAGCCATAGCCCGGGCAAA

p75NTR ECD D134L canina (SEQ NO:58)
KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT

ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDRQNT
VCEECPDGTYSDEANHV**L**PCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGR

p75NTR ECD D134L canina – IgGB wt Fc canina (SEQ ID NO:59)
MEWSWVFLFFLSVTTGVHSKEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPC
LDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEAC
RVCEAGSGLVFSCQDRQNTVCEECPDGTYSDEANHV**L**PCLPCTVCEDTERQLRECTRW
ADAECEEIPGR**GGGG**RENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFPPKPKDTLLIARTPEV
TCVVVDLDPEDPEVQISWFVDGKQMQTAKTQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGK
QFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDV
EWQSNGQQEPESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNH
YTQKSLSHSPGK

Péptido señal - p75-ECD canina - Enlazador **GGGG** - Fc-B wt canino

p75NTR ECD D134L canina – secuencia de ácidos nucleicos IgGB wt Fc canina (SEQ ID NO:60)
ATGGAATGGAGCTGGGTGTTTCTGTTTTTTCTGAGCGTGACCACCGGCGTGCATAGC
AAAGAAGCGTGCCCGACCGGCCTGTATACCCATAGCGGCGAATGCTGCAAAGCGTG
CAACCTGGGCGAAGGCGTGGCGCAGCCGTGCGGCGCGAACCAGACCGTGTGCGAAC
CGTGCCTGGATAGCGTGACCTTTAGCGATGTGGTGAGCGCGACCGAACCGTGCAAA
CCGTGCACCGAATCGTGGGCCTGCAGAGCATGAGCGCGCCGTGCGTGGAAGCGGAT
GATGCGGTGTGCCGCTGCGCGTATGGCTATTATCAGGATGAAACCACCGGCCGCTGC
GAAGCGTGCCGCGTGTGCGAAGCGGGCAGCGGCCTGGTGTTTAGCTGCCAGGATCG
CCAGAACACCGTGTGCGAAGAATGCCCGGATGGCACCTATAGCGATGAAGCGAACC
ATGTGCTGCCGTGCCTGCCGTGCACCGTGTGCGAAGATACCGAACGCCAGCTGCGC
GAATGCACCCGCTGGGCGGATGCGGAATGCGAAGAAATTCCGGGCCGCGGCGGCGG
CGGCCGCGAAAACGGCCGCGTGCCGCGCCCGCCGGATTGCCCGAAATGCCCGGCGC
CGGAAATGCTGGGCGGCCCGAGCGTGTTTATTTTTCCGCCGAAACCGAAAGATACCC
TGCTGATTGCGCGCACCCCGGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATCTGGATCCGGAA
GATCCGGAAGTGCAGATTAGCTGGTTTGTGGATGGCAAACAGATGCAGACCGCGAA
AACCCAGCCGCGCGAAGAACAGTTTAACGGCACCTATCGCGTGGTGAGCGTGCTGC
CGATTGGCCATCAGGATTGGCTGAAAGGCAAACAGTTTACCTGCAAAGTGAACAAC
AAAGCGCTGCCGAGCCCGATTGAACGCACCATTAGCAAAGCGCGCGGCCAGGCGCA
TCAGCCGAGCGTGTATGTGCTGCCGCCGAGCCGCGAAGAACTGAGCAAAAACACCG
TGAGCCTGACCTGCCTGATTAAAGATTTTTTTCCGCCGGATATTGATGTGGAATGGC
AGAGCAACGGCCAGCAGGAACCGGAAAGCAAATATCGCACCACCCCGCCGCAGCT
GGATGAAGATGGCAGCTATTTTCTGTATAGCAAACTGAGCGTGGATAAAAGCCGCT
GGCAGCGCGGCGATACCTTTATTTGCGCGGTGATGCATGAAGCGCTGCATAACCATT
ATACCCAGAAAAGCCTGAGCCATAGCCCGGGCAAA

p75NTR ECD E75T felina (SEQ NO:61)
KEACPTGLFTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEA**T**DAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDRQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIP

p75NTR ECD E75T felina – IgG1 felina (SEQ ID NO:62)
MDGPRPLLLLLPLLLGVSLGGAKEACPTGLFTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVC

EPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEA**T**DAVCRCAYGYYQDETTGRC
EACRVCEAGSGLVFSCQDRQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECT
RWADAECEEIP**GGGG**VRKTDHPPGPKPCDCPKCPAPEMLGGPSIFIFPPKPKDTLSISRTP
EVTCLVVDLGPDDSDVQITWFVDNTQVYTAKTSPREEQFNSTYRVVSVLPILHQDWLK
GKEFKCKVNSKSLPSPIERTISKAKGQPHEPQVYVLPPAQEELSRNKVSVTCLIKSFHPPDI
AVEWEITGQPEPENNYRTTPPQLDSDGTYFVYSKLSVDRSHWQRGNTYTCSVSHEALHS
HHTQKSLTQSPGK

Péptido señal - p75-ECD felina - Enlazador **GGGG** - Fc-IgG1 felina

p75NTR ECD S109Y felina (SEQ NO:63)
KEACPTGLFTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVF**Y**CQDRQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIP

p75NTR ECD S109Y felina – Fc IgG1 felina (SEQ ID NO:64)
MDGPRPLLLLLPLLLGVSLGGAKEACPTGLFTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVC
EPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRC
EACRVCEAGSGLVF**Y**CQDRQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLREC
TRWADAECEEIP**GGGG**VRKTDHPPGPKPCDCPKCPAPEMLGGPSIFIFPPKPKDTLSISRT
PEVTCLVVDLGPDDSDVQITWFVDNTQVYTAKTSPREEQFNSTYRVVSVLPILHQDWLK
GKEFKCKVNSKSLPSPIERTISKAKGQPHEPQVYVLPPAQEELSRNKVSVTCLIKSFHPPDI
AVEWEITGQPEPENNYRTTPPQLDSDGTYFVYSKLSVDRSHWQRGNTYTCSVSHEALHS
HHTQKSLTQSPGK

Péptido señal - p75-ECD felina - Enlazador **GGGG** - Fc-IgG1 felina

p75NTR ECD S109H felina (SEQ NO:65)
KEACPTGLFTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVF**H**CQDRQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIP

p75NTR ECD S109H felina – Fc IgG1 felina (SEQ ID NO:66)
MDGPRPLLLLLPLLLGVSLGGAKEACPTGLFTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVC
EPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRC
EACRVCEAGSGLVF**H**CQDRQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLREC
TRWADAECEEIP**GGGG**VRKTDHPPGPKPCDCPKCPAPEMLGGPSIFIFPPKPKDTLSISRT
PEVTCLVVDLGPDDSDVQITWFVDNTQVYTAKTSPREEQFNSTYRVVSVLPILHQDWLK
GKEFKCKVNSKSLPSPIERTISKAKGQPHEPQVYVLPPAQEELSRNKVSVTCLIKSFHPPDI
AVEWEITGQPEPENNYRTTPPQLDSDGTYFVYSKLSVDRSHWQRGNTYTCSVSHEALHS
HHTQKSLTQSPGK

Péptido señal - p75-ECD felina - Enlazador **GGGG** - Fc-IgG1 felina

p75NTR ECD V133R felina (SEQ NO:67)
KEACPTGLFTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDRQNT
VCEECPDGTYSDEANH**R**DPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIP

p75NTR ECD V133R felina – Fc IgG1 felina (SEQ ID NO:68)
MDGPRPLLLLLPLLLGVSLGGAKEACPTGLFTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVC
EPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRC
EACRVCEAGSGLVFSCQDRQNTVCEECPDGTYSDEANH**R**DPCLPCTVCEDTERQLRECT
RWADAECEEIP**GGGG**VRKTDHPPGPKPCDCPKCPAPEMLGGPSIFIFPPKPKDTLSISRTP
EVTCLVVDLGPDDSDVQITWFVDNTQVYTAKTSPREEQFNSTYRVVSVLPILHQDWLK
GKEFKCKVNSKSLPSPIERTISKAKGQPHEPQVYVLPPAQEELSRNKVSVTCLIKSFHPPDI
AVEWEITGQPEPENNYRTTPPQLDSDGTYFVYSKLSVDRSHWQRGNTYTCSVSHEALHS
HHTQKSLTQSPGK

Péptido señal - p75-ECD felina - Enlazador **GGGG** - Fc-IgG1 felina

p75NTR ECD D134L felina (SEQ NO:69)
KEACPTGLFTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDRQNT
VCEECPDGTYSDEANHV**L**PCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIP

p75NTR ECD D134L felina – Fc IgG1 felina (SEQ ID NO:70)
MDGPRPLLLLLPLLLGVSLGGAKEACPTGLFTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVC
EPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRC
EACRVCEAGSGLVFSCQDRQNTVCEECPDGTYSDEANHV**L**PCLPCTVCEDTERQLRECT
RWADAECEEIP**GGGG**VRKTDHPPGPKPCDCPKCPAPEMLGGPSIFIFPPKPKDTLSISRTP
EVTCLVVDLGPDDSDVQITWFVDNTQVYTAKTSPREEQFNSTYRVVSVLPILHQDWLK
GKEFKCKVNSKSLPSPIERTISKAKGQPHEPQVYVLPPAQEELSRNKVSVTCLIKSFHPPDI
AVEWEITGQPEPENNYRTTPPQLDSDGTYFVYSKLSVDRSHWQRGNTYTCSVSHEALHS
HHTQKSLTQSPGK

Péptido señal - p75-ECD felina - Enlazador **GGGG** - Fc-IgG1 felina

Proteína p75NTR humana (SEQ ID NO:71)

>sp|P08138|TNR16_HUMAN Miembro de la superfamilia 16 del receptor del factor de necrosis tumoral OS=Homo sapiens OX=9606 GN=NGFR PE=1 SV=1

MGAGATGRAMDGPRLLLLLLLGVSLGGAKEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPC
GANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQ
DETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDT
ERQLRECTRWADAECEEIPGRWITRSTPPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQDLIASTVAGVVTT
VMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYCSILAAVVVGLVAYIAFKRWNSCKQNKQGANSRPVNQ
TPPPEGEKLHSDSGISVDSQSLHDQQPHTQTASGQALKGDGGLYSSLPPAKREEVEKLLN
GSAGDTWRHLAGELGYQPEHIDSFTHEACPVRALLASWATQDSATLDALLAALRRIQR
ADLVESLCSESTATSPV

Secuencia completa de p75NTR aa, incluidos el péptido señal, el ECD y los dominios transmembrana e intracelular

Secuencia de ácidos nucleicos p75NTR humana (SEQ ID NO:72)

ATGGGCGCCGGCGCCACCGGCAGGGCCATGGACGGCCCCAGGCTGCTGCTGCTGCT
GCTGCTGGGCGTGAGCCTGGGCGGCGCCAAGGAGGCCTGCCCCACCGGCCTGTACA
CCCACAGCGGCGAGTGCTGCAAGGCCTGCAACCTGGGCGAGGGCGTGGCCCAGCCC
TGCGGCGCCAACCAGACCGTGTGCGAGCCCTGCCTGGACAGCGTGACCTTCAGCGA
CGTGGTGAGCGCCACCGAGCCCTGCAAGCCCTGCACCGAGTGCGTGGGCCTGCAGA
GCATGAGCGCCCCCTGCGTGGAGGCCGACGACGCCGTGTGCAGGTGCGCCTACGGC
TACTACCAGGACGAGACCACCGGCAGGTGCGAGGCCTGCAGGGTGTGCGAGGCCGG
CAGCGGCCTGGTGTTCAGCTGCCAGGACAAGCAGAACACCGTGTGCGAGGAGTGCC
CCGACGGCACCTACAGCGACGAGGCCAACCACGTGGACCCCTGCCTGCCCTGCACC
GTGTGCGAGGACACCGAGAGGCAGCTGAGGGAGTGCACCAGGTGGGCCGACGCCG
AGTGCGAGGAGATCCCCGGCAGGTGGATCACCAGGAGCACCCCCCCCGAGGGCAGC
GACAGCACCGCCCCCAGCACCCAGGAGCCCGAGGCCCCCCCCGAGCAGGACCTGAT
CGCCAGCACCGTGGCCGGCGTGGTGACCACCGTGATGGGCAGCAGCCAGCCCGTGG
TGACCAGGGGCACCACCGACAACCTGATCCCCGTGTACTGCAGCATCCTGGCCGCC
GTGGTGGTGGGCCTGGTGGCCTACATCGCCTTCAAGAGGTGGAACAGCTGCAAGCA
GAACAAGCAGGGCGCCAACAGCAGGCCCGTGAACCAGACCCCCCCCCCCGAGGGC
GAGAAGCTGCACAGCGACAGCGGCATCAGCGTGGACAGCCAGAGCCTGCACGACC
AGCAGCCCCACACCCAGACCGCCAGCGGCCAGGCCCTGAAGGGCGACGGCGGCCTG
TACAGCAGCCTGCCCCCCGCCAAGAGGGAGGAGGTGGAGAAGCTGCTGAACGGCA
GCGCCGGCGACACCTGGAGGCACCTGGCCGGCGAGCTGGGCTACCAGCCCGAGCAC
ATCGACAGCTTCACCCACGAGGCCTGCCCCGTGAGGGCCCTGCTGGCCAGCTGGGC
CACCCAGGACAGCGCCACCCTGGACGCCCTGCTGGCCGCCCTGAGGAGGATCCAGA
GGGCCGACCTGGTGGAGAGCCTGTGCAGCGAGAGCACCGCCACCAGCCCCGTG

ECD de proteína p75NTR humana con región peduncular (SEQ ID NO:73)
KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIP<u>GRWITRSTPPE</u>
<u>GSDSTAPSTQEPEAPPE</u>**<u>QDLIASTVAGVVTTVM</u>**

La región WT ECD incluye la región peduncular (subrayada) y la escisión de alfa y gamma secretasa 3' de la región peduncular (en negrita).

Secuencia de ácidos nucleicos de p75NTR ECD humano (SEQ ID NO:74)
AAGGAGGCCTGCCCCACCGGCCTGTACACCCACAGCGGCGAGTGCTGCAAGGCCTG
CAACCTGGGCGAGGGCGTGGCCCAGCCCTGCGGCGCCAACCAGACCGTGTGCGAGC
CCTGCCTGGACAGCGTGACCTTCAGCGACGTGGTGAGCGCCACCGAGCCCTGCAAG
CCCTGCACCGAGTGCGTGGGCCTGCAGAGCATGAGCGCCCCCTGCGTGGAGGCCGA
CGACGCCGTGTGCAGGTGCGCCTACGGCTACTACCAGGACGAGACCACCGGCAGGT
GCGAGGCCTGCAGGGTGTGCGAGGCCGGCAGCGGCCTGGTGTTCAGCTGCCAGGAC
AAGCAGAACACCGTGTGCGAGGAGTGCCCCGACGGCACCTACAGCGACGAGGCCA
ACCACGTGGACCCCTGCCTGCCCTGCACCGTGTGCGAGGACACCGAGAGGCAGCTG
AGGGAGTGCACCAGGTGGGCCGACGCCGAGTGCGAGGAGATCCCCGGCAGGTGGA
TCACCAGGAGCACCCCCCCCGAGGGCAGCGACAGCACCGCCCCCAGCACCCAGGAG
CCCGAGGCCCCCCCCGAGCAGGACCTGATCGCCAGCACCGTGGCCGGCGTGGTGAC
CACCGTGATG

Proteína de la región peduncular del ECD de p75NTR humano (SEQ ID NO:75)

GRWITRSTPPEGSDSTAPSTQEPEAPPE**QDLIASTVAGVVTTVM**

La región peduncular WT ECD (subrayada) y la escisión de alfa y gamma secretasa 3' de la región peduncular (en negrita).

Secuencia de ácidos nucleicos de la región peduncular del ECD de p75NTR humano (SEQ ID NO:76)
GGCAGGTGGATCACCAGGAGCACCCCCCCCGAGGGCAGCGACAGCACCGCCCCCAG
CACCCAGGAGCCCGAGGCCCCCCCCGAGCAGGACCTGATCGCCAGCACCGTGGCCG
GCGTGGTGACCACCGTGATG

IgG1 humana (SEQ ID NO:77)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

IgG2 humana (SEQ ID NO:78)
ERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI
SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQPENNYKTTP
PMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

IgG3 humana (SEQ ID NO:79)
ELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCP
APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKWYVDGVEVHNAKT
KPREEQYNSTFRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQV
YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPPMLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNIFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK

IgG4 humana (SEQ ID NO:80)
ESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

IgG1 de pedúnculo completo de p75NTR ECD de PetML308_Human (SEQ ID NO:81)
KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGRWITRSTPPE
GSDSTAPSTQEPEAPPEQDLIASTVAGVVTTVMGGGGEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

IgG1 de pedúnculo parcial de p75NTR ECD de PetML309_Human (SEQ ID NO:82)
KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT

ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGRWITRSTPPE
GGGGEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K

IgG1 sin pedúnculo de p75NTR ECD de PetML319_Human (SEQ ID NO:83)
KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGGGGEPKSCDK
THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

p75NTR ECD E75T humana (SEQ NO:84)
KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEATDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIP

p75NTR ECD E75T humana – IgG1 Fc humana (SEQ ID NO:85)
KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEATDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGGGGEPKSCDK
THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

p75NTR ECD E75T humana – secuencia de ácidos nucleicos IgG1 Fc humana (SEQ ID NO:86)
AAGGAGGCCTGCCCCACCGGCCTGTACACCCACAGCGGCGAGTGCTGCAAGGCCTG
CAACCTGGGCGAGGGCGTGGCCCAGCCCTGCGGCGCCAACCAGACCGTGTGCGAGC
CCTGCCTGGACAGCGTGACCTTCAGCGACGTGGTGAGCGCCACCGAGCCCTGCAAG
CCCTGCACCGAGTGCGTGGGCCTGCAGAGCATGAGCGCCCCCTGCGTGGAGGCCAC
CGACGCCGTGTGCGGTGCGCCTACGGCTACTACCAGGACGAGACCACCGGCAGGTG
CGAGGCCTGCAGGGTGTGCGAGGCCGGCAGCGGCCTGGTGTTCAGCTGCCAGGACA
AGCAGAACACCGTGTGCGAGGAGTGCCCCGACGGCACCTACAGCGACGAGGCCAAC
CACGTGGACCCCTGCCTGCCCTGCACCGTGTGCGAGGACACCGAGAGGCAGCTGAG
GGAGTGCACCAGGTGGGCCGACGCCGAGTGCGAGGAGATCCCCGGCGGCGGCGGC
GAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCCGCCCCCGAGCT
GCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGAT
CAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCG
AGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAG
CCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCT
GCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCC
CTGCCCGCCCCCATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGGGAGCC

CCAGGTGTACACCCTGCCCCCCAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCC
TGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC
AACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCCGTGCTGGACAGCGACGG
CAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCA
ACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAG
AGCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG

p75NTR ECD S109Y humana (SEQ NO:87)
KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFYCQDKQNT
VCEE CPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIP

p75NTR ECD S109Y humana – IgG1 Fc humana (SEQ ID NO:88)
KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFYCQDKQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGGGGEPKSCDK
THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

p75NTR ECD S109Y humana – secuencia de ácidos nucleicos IgG1 Fc humana (SEQ ID NO:89)
AAGGAGGCCTGCCCCACCGGCCTGTACACCCACAGCGGCGAGTGCTGCAAGGCCTG
CAACCTGGGCGAGGGCGTGGCCCAGCCCTGCGGCGCCAACCAGACCGTGTGCGAGC
CCTGCCTGGACAGCGTGACCTTCAGCGACGTGGTGAGCGCCACCGAGCCCTGCAAG
CCCTGCACCGAGTGCGTGGGCCTGCAGAGCATGAGCGCCCCCTGCGTGGAGGCCGA
CGACGCCGTGTGCAGGTGCGCCTACGGCTACTACCAGGACGAGACCACCGGCAGGT
GCGAGGCCTGCAGGGTGTGCGAGGCCGGCAGCGGCCTGGTGTTCTACTGCCAGGAC
AAGCAGAACACCGTGTGCGAGGAGTGCCCCGACGGCACCTACAGCGACGAGGCCA
ACCACGTGGACCCCTGCCTGCCCTGCACCGTGTGCGAGGACACCGAGAGGCAGCTG
AGGGAGTGCACCAGGTGGGCCGACGCCGAGTGCGAGGAGATCCCCGGCGGCGGCG
GCGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCCGCCCCCGAG
CTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATG
ATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCC
CGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCA
AGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGAGCGTGCTGACCGTG
CTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGG
CCCTGCCCGCCCCCATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGGGAG
CCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAG
CCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA
GCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCCGTGCTGGACAGCGAC
GGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGG
CAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGA
AGAGCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG

p75NTR ECD S109H humana (SEQ NO:90)
KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT

ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFHCQDKQNT
VCEE CPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIP

p75NTR ECD S109H humana – IgG1 Fc humana (SEQ ID NO:91)
KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFHCQDKQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGGGGEPKSCDK
THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

p75NTR ECD S109H humana – secuencia de ácidos nucleicos IgG1 Fc humana (SEQ ID NO:92)
AAGGAGGCCTGCCCCACCGGCCTGTACACCCACAGCGGCGAGTGCTGCAAGGCCTG
CAACCTGGGCGAGGGCGTGGCCCAGCCCTGCGGCGCCAACCAGACCGTGTGCGAGC
CCTGCCTGGACAGCGTGACCTTCAGCGACGTGGTGAGCGCCACCGAGCCCTGCAAG
CCCTGCACCGAGTGCGTGGGCCTGCAGAGCATGAGCGCCCCCTGCGTGGAGGCCGA
CGACGCCGTGTGCAGGTGCGCCTACGGCTACTACCAGGACGAGACCACCGGCAGGT
GCGAGGCCTGCAGGGTGTGCGAGGCCGGCAGCGGCCTGGTGTTCCACTGCCAGGAC
AAGCAGAACACCGTGTGCGAGGAGTGCCCCGACGGCACCTACAGCGACGAGGCCA
ACCACGTGGACCCCTGCCTGCCCTGCACCGTGTGCGAGGACACCGAGAGGCAGCTG
AGGGAGTGCACCAGGTGGGCCGACGCCGAGTGCGAGGAGATCCCCGGCGGCGGCG
GCGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCCGCCCCCGAG
CTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATG
ATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCC
CGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCA
AGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGAGCGTGCTGACCGTG
CTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGG
CCCTGCCCGCCCCCATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGGGAG
CCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAG
CCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA
GCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCCGTGCTGGACAGCGAC
GGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGG
CAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGA
AGAGCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG

p75NTR ECD V133R humana (SEQ NO:93)
KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNT
VCEE CPDGTYSDEANHRDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIP

p75NTR ECD V133R humana – IgG1 Fc humana (SEQ ID NO:94)
KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNT
VCEECPDGTYSDEANHRDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGGGGEPKSCDK
THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA

KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

p75NTR ECD V133R humana – secuencia de ácidos nucleicos IgG1 Fc humana (SEQ ID NO:95)
AAGGAGGCCTGCCCCACCGGCCTGTACACCCACAGCGGCGAGTGCTGCAAGGCCTG
CAACCTGGGCGAGGGCGTGGCCCAGCCCTGCGGCGCCAACCAGACCGTGTGCGAGC
CCTGCCTGGACAGCGTGACCTTCAGCGACGTGGTGAGCGCCACCGAGCCCTGCAAG
CCCTGCACCGAGTGCGTGGGCCTGCAGAGCATGAGCGCCCCCTGCGTGGAGGCCGA
CGACGCCGTGTGCAGGTGCGCCTACGGCTACTACCAGGACGAGACCACCGGCAGGT
GCGAGGCCTGCAGGGTGTGCGAGGCCGGCAGCGGCCTGGTGTTCAGCTGCCAGGAC
AAGCAGAACACCGTGTGCGAGGAGTGCCCCGACGGCACCTACAGCGACGAGGCCA
ACCACAGGGACCCCTGCCTGCCCTGCACCGTGTGCGAGGACACCGAGAGGCAGCTG
AGGGAGTGCACCAGGTGGGCCGACGCCGAGTGCGAGGAGATCCCCGGCGGCGGCG
GCGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCCGCCCCCGAG
CTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATG
ATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCC
CGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCA
AGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGAGCGTGCTGACCGTG
CTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGG
CCCTGCCCGCCCCCATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGGGAG
CCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAG
CCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA
GCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCCGTGCTGGACAGCGAC
GGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGG
CAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGA
AGAGCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG

p75NTR ECD D134L humana (SEQ NO:96)
KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNT
VCEE CPDGTYSDEANHVLPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIP

p75NTR ECD D134L humana – IgG1 Fc humana (SEQ ID NO:97)
KEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCT
ECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNT
VCEECPDGTYSDEANHVLPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGGGGEPKSCDK
THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

p75NTR ECD D134L humana – secuencia de ácidos nucleicos IgG1 Fc humana (SEQ ID NO:98)
AAGGAGGCCTGCCCCACCGGCCTGTACACCCACAGCGGCGAGTGCTGCAAGGCCTG
CAACCTGGGCGAGGGCGTGGCCCAGCCCTGCGGCGCCAACCAGACCGTGTGCGAGC
CCTGCCTGGACAGCGTGACCTTCAGCGACGTGGTGAGCGCCACCGAGCCCTGCAAG
CCCTGCACCGAGTGCGTGGGCCTGCAGAGCATGAGCGCCCCCTGCGTGGAGGCCGA

CGACGCCGTGTGCAGGTGCGCCTACGGCTACTACCAGGACGAGACCACCGGCAGGT
GCGAGGCCTGCAGGGTGTGCGAGGCCGGCAGCGGCCTGGTGTTCAGCTGCCAGGAC
AAGCAGAACACCGTGTGCGAGGAGTGCCCCGACGGCACCTACAGCGACGAGGCCA
ACCACGTGCTGCCCTGCCTGCCCTGCACCGTGTGCGAGGACACCGAGAGGCAGCTG
AGGGAGTGCACCAGGTGGGCCGACGCCGAGTGCGAGGAGATCCCCGGCGGCGGCG
GCGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCCGCCCCCGAG
CTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATG
ATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCC
CGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCA
AGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGAGCGTGCTGACCGTG
CTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGG
CCCTGCCCGCCCCCATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGGGAG
CCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAG
CCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA
GCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCCGTGCTGGACAGCGAC
GGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGG
CAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGA
AGAGCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG

Los ejemplos de proteínas p75NTR de la invención procedentes de camellos y cerdos se incorporan en el Listado de Secuencias XML como sigue:

Proteína p75NTR de camello (SEQ ID NO:99)
Secuencia de ácidos nucleicos de p75NTR de camello (SEQ ID NO:100)
ECD de proteína p75NTR de camello (SEQ ID NO:101)
Secuencia de ácidos nucleicos de ECD de proteína p75NTR de camello (SEQ ID NO:102)
p75NTR ECD E75T de camello (SEQ ID NO:103)
p75NTR ECD S109Y de camello (SEQ ID NO:104)
p75NTR ECD S109H de camello (SEQ ID NO:105)
p75NTR ECD V133R de camello (SEQ ID NO:106)
p75NTR ECD D134L de camello (SEQ ID NO:107)
Proteína p75NTR de cerdo (SEQ ID NO:108)
Secuencia de ácidos nucleicos de p75NTR de cerdo (SEQ ID NO:109)
ECD de proteína p75NTR de cerdo (SEQ ID NO:110)
Secuencia de ácidos nucleicos de ECD de proteína p75NTR de cerdo (SEQ ID NO:111)
p75NTR ECD E75T de cerdo (SEQ ID NO:112)
p75NTR ECD S109Y de cerdo (SEQ ID NO:113)
p75NTR ECD S109H de cerdo (SEQ ID NO:114)
p75NTR ECD V133R de cerdo (SEQ ID NO:115)
p75NTR ECD D134L de cerdo (SEQ ID NO:116)
ECD de proteína p75NTR equina (SEQ NO:118)
Secuencia de ácidos nucleicos de ECD de proteína p75NTR equina (SEQ ID NO:119)
p75NTR ECD E75T equina (SEQ ID NO:120)
p75NTR ECD S109Y equina (SEQ ID NO:121)
p75NTR ECD S109H equina (SEQ ID NO:122)
p75NTR ECD V133R equina (SEQ ID NO:123)
p75NTR ECD D134L equina (SEQ ID NO:124)
ECD de proteína p75NTR bovina (SEQ NO:125)
Secuencia de ácidos nucleicos de ECD de proteína p75NTR bovina (SEQ ID NO:126)

p75NTR ECD E75T bovina (SEQ ID NO:127)
p75NTR ECD S109Y bovina (SEQ ID NO:128)
p75NTR ECD S109H bovina (SEQ ID NO:129)
p75NTR ECD V133R bovina (SEQ ID NO:130)
p75NTR ECD D134L bovina (SEQ ID NO:131)