

REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido que comprende una fosfatasa alcalina recombinante con una o más mutaciones seleccionadas del grupo que consiste en i) una de E108S, E108T, E108Q, E108M, E108K, y E108L, ii) M384R, iii) L385T, iv) N213Q, y v) N286Q con respecto a SEQ ID NO: 1, y en donde el polipéptido tiene 90 % a 100 % de identidad de secuencia con cualquiera de SEQ ID NO: 72, 123, 155 y 177.
2. El polipéptido de la reivindicación 1, en donde la fosfatasa alcalina recombinante tiene una mutación E108T, E108M y E108L con respecto a SEQ ID NO: 1.
3. El polipéptido de la reivindicación 2, en donde la fosfatasa alcalina recombinante tiene una mutación E108M con respecto a SEQ ID NO: 1.
4. El polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la fosfatasa alcalina recombinante tiene dos, tres, cuatro o cinco mutaciones seleccionadas del grupo que consiste en E108S, E108T, E108Q, E108M, E108K, E108L, M384R, L385T, N213Q y N286Q con respecto a SEQ ID NO: 1.
5. El polipéptido de la reivindicación 4, en donde la fosfatasa alcalina recombinante tiene mutaciones E108M, N213Q y N286Q con respecto a SEQ ID NO: 1.
6. El polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde la fosfatasa alcalina recombinante no tiene una mutación E108A con respecto a SEQ ID NO: 1.
7. El polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde la mutación mejora al menos una actividad seleccionada del grupo que consiste en actividad catalítica aumentada, termoestabilidad aumentada, unión de cinc aumentada, mantenimiento de la actividad en un tampón reducido en cinc, mantenimiento de la actividad a un pH de 5.0 - 7.5, dimerización disminuida, agregación disminuida y capacidad de fabricación aumentada.
8. El polipéptido de la reivindicación 7, en donde el aumento de la actividad catalítica comprende un aumento de hidrólisis de piridoxal 5-fosfato y pirofosfato.
9. El polipéptido de la reivindicación 7 u 8, en donde la actividad catalítica aumentada

es de 4 veces a 30 veces mejor que la actividad de la fosfatasa alcalina de origen natural.

10. El polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde la mutación mejora al menos una propiedad farmacocinética seleccionada del grupo que consiste en especificidad de sustrato aumentada, actividad aumentada contra un sustrato natural, actividad aumentada contra un sustrato artificial, Km disminuida por un sustrato natural y área bajo la curva (ABC) aumentada por dosis.

11. El polipéptido de la reivindicación 10, en donde el sustrato artificial se selecciona del grupo que consiste en fosfato de umbeliferilo, fosfato de paranitrofenilo (pNPP) y MUP; y en donde el sustrato natural se selecciona del grupo que consiste en piridoxal-5'-fosfato, PLP y PEA.

12. El polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, que comprende además una región Y, en donde Y es una secuencia de aminoácidos de al menos un aminoácido.

13. El polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 1-12, que comprende además un resto de dirección al hueso, Xn, seleccionado del grupo que consiste en Dn, En, (DAD)n, (DDS)n, (DSS)n, (EES)n y VHH, en donde n = 1 a 50.

14. El polipéptido de la reivindicación 13, en donde n = 1 a 30.

15. El polipéptido de la reivindicación 14, donde el resto de dirección al hueso es:

- (a) Dn y n = 7 a 10;
- (b) En y n = 10 a 15;
- (c) (DAD)n y n = 2 a 4;
- (d) (DDS)n y n = 2 a 4;
- (e) (DSS)n y n = 3; o
- (f) (EES)n y n = 3 a 4.

16. El polipéptido de la reivindicación 15, en donde el resto de dirección al hueso comprende (DAD)₃ o (DDS)₃.

17. El polipéptido de la reivindicación 13, en donde al menos una región determinante de la complementariedad (CDR) del VHH está sustituida con al menos un residuo de glutamato o aspartato.

18. El polipéptido de la reivindicación 17, en donde al menos una CDR está sustituida con 2 a 30 residuos de glutamato o aspartato.
19. El polipéptido de la reivindicación 17 o 18, en donde dos o tres CDR están sustituidas con 2 a 30 residuos de glutamato o aspartato.
20. El polipéptido de la reivindicación 18 o 19, en donde al menos una CDR está sustituida con 5 o 7 residuos de glutamato o aspartato.
21. El polipéptido de la reivindicación 12, en donde el polipéptido comprende la estructura Z-ALP-Y-X_n, en donde:
- Y comprende una región de fragmento cristalizable (Fc);
 - Z está ausente o es una secuencia de aminoácidos de al menos un aminoácido;
 - X_n es un resto de dirección al hueso seleccionado del grupo que consiste en poliaspartato (D_n) y poliglutamato (E_n), y n = 1 a 50; y
 - ALP es la fosfatasa alcalina recombinante.
22. El polipéptido de la reivindicación 21, en donde la región Fc comprende IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4, o una quimera de las mismas.
23. El polipéptido de la reivindicación 22, en donde la región Fc comprende una quimera IgG2/4.
24. El polipéptido de la reivindicación 23, en donde la región Fc comprende una secuencia de aminoácidos que tiene 85% a 100% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 253.
25. El polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 1-24, en donde el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene 95 % a 100 % de identidad de secuencia con una cualquiera de SEQ ID NO: 72, 123, 155 y 177.
26. El polipéptido de la reivindicación 25, en donde el polipéptido comprende la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 72, 123, 155 y 177.
27. El polipéptido de la reivindicación 26, en donde el polipéptido comprende la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 123.

28. El polipéptido de la reivindicación 27, en donde el polipéptido consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 123.

29. El polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 1-28, en donde el polipéptido es un dímero.

30. Un polinucleótido que codifica el polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 1-29.

31. Un vector que comprende el polinucleótido de la reivindicación 30.

32. Una célula aislada que comprende el polinucleótido de la reivindicación 30 o el vector de la reivindicación 31.

33. Un método de producción del polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 1-29, que comprende:

(a) proporcionar una célula transformada con el polinucleótido de la reivindicación 30 o el vector de la reivindicación 31, en donde el polinucleótido se coloca para su expresión en la célula;

(b) cultivar la célula transformada en condiciones adecuadas para expresar el polinucleótido, en donde el cultivo da como resultado la expresión del polipéptido; y

(c) aislar el polipéptido.

34. Una composición farmacéutica que comprende el polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 1-29 y un transportador farmacéuticamente aceptable.

35. La composición farmacéutica de la reivindicación 34, en donde el transportador farmacéuticamente aceptable comprende cloruro de sodio en una concentración de 150 mM y fosfato de sodio en una concentración de 25 mM a un pH de 7.4.

36. La composición farmacéutica de las reivindicaciones 34 o 35, en donde la composición comprende de 0.1 mg/ml a 10 mg/ml del polipéptido o tiene un volumen de 0.1 ml a 50 ml.