



(19) OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 346 116**

(51) Int. Cl.:

**A61K 45/00** (2006.01)

**C07K 19/00** (2006.01)

**C07K 7/08** (2006.01)

**C07K 7/23** (2006.01)

**C07K 1/00** (2006.01)

**A61K 38/10** (2006.01)

**A61K 39/39** (2006.01)

**A61K 39/385** (2006.01)

(12)

### TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **99928826 .9**

(96) Fecha de presentación : **21.06.1999**

(97) Número de publicación de la solicitud: **1089760**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **11.04.2001**

(54) Título: **Epítopos artificiales de células T ayudadoras como estimuladores inmunes para péptidos sintéticos inmunógenos.**

(30) Prioridad: **20.06.1998 US 100412**

(73) Titular/es: **United Biomedical, Inc.**  
**25 Davids Drive**  
**Hauppauge, New York 11788, US**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**08.10.2010**

(72) Inventor/es: **Wang, Chang, Yi**

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**08.10.2010**

(74) Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Epítopos artificiales de células T ayudadoras como estimuladores inmunes para péptidos sintéticos inmunógenos.

### 5 Campo de la invención

Esta invención se refiere a un inmunógeno peptídico que comprende un epítope novedoso artificial de célula asistente T (Th) unido covalentemente a un sitio objetivo antigénico deseado que comprende epítopes de células B y opcionalmente una secuencia general inmuno estimuladora. El epítope artificial Th imparte al inmunógeno peptídico la capacidad de inducir respuestas inmunes fuertes mediadas por células asistentes T y la producción de anticuerpos dirigidos en contra de “el sitio objetivo antigénico”. La invención también proporciona el reemplazo ventajoso de proteínas portadoras y sitios de células asistentes T derivados de patógeno en inmunógenos peptídicos establecidos por los epítopes novedosos artificiales de células asistentes T para mejorada inmunogenicidad.

15 Se han desarrollado muchas reglas para predecir las secuencias de aminoácidos de los epítopes de las células T. Sin embargo, debido a que no existe una teoría unificante central sobre como o que hace a una secuencia de aminoácidos particular útil como epítope de células T, las reglas son empíricas y no son universalmente aplicables. Estando enterados de estas reglas, se desarrollaron los epítopes novedosos artificiales de células asistentes T de la presente invención, sin embargo, por investigación empírica.

20 Los inmunógenos peptídicos de la presente invención son útiles para evocar respuestas anticuerpo en un huésped inmunizado a un sitio objetivo antigénico deseado, que incluye sitios tomados de organismos patogénicos y sitios tomados de autoantígeno normalmente inmuno silenciosos y objetivos asociados con tumores. En consecuencia, los péptidos de la invención son útiles en diversas aplicaciones médicas y veterinarias, tales como: vacunas para proporcionar inmunidad protectora de enfermedades infecciosas; inmunoterapias para tratar trastornos que resultan del mal funcionamiento de los procesos fisiológicos normales; inmunoterapias para tratar cáncer y como agentes para intervenir en procesos fisiológicos normales para producir resultados deseables.

30 Por ejemplo, los epítopes novedosos artificiales de células asistentes T de la presente invención proporcionan inmunógenos peptídicos cortos novedosos que producen anticuerpos seleccionados para la hormona que libera la hormona luteinizante (LHRH) y son útiles para anticoncepción, control de tumores dependientes de hormona, prevención de mancha de puerco sin castrar, e inmunocastración. Los epítopes novedosos artificiales de Th de la presente invención se han encontrado que provocan una respuesta inmune cuando se combinan con epítopes de células B objetivo de diversos microorganismos/proteínas/ péptidos. Además de la LHRH, los epítopes artificiales de Th de la presente invención se ha encontrado que son útiles cuando se enlazan a otros sitios antigénicos objetivo que incluyen somatostatina para la promoción del crecimiento en animales de granja; IgE para el tratamiento de alergia; el receptor CD4 de las células asistentes T para el tratamiento y prevención de la infección por VIH y trastornos inmunes; y proteína de capsida del virus de la enfermedad de pie y boca para la prevención de la enfermedad de pie y boca; epítopes virion VIH para la prevención y tratamiento de la infección VIH; el antígeno de circunsporozoito de *Plasmodium falciparum* para la prevención y tratamiento de arteriosclerosis.

### Antecedentes de la invención

45 Se sabe que la mayoría de las respuestas inmunes del anticuerpo son mediadas por células, que requieren la interacción cooperativa entre células que presentan antígeno, células B (células que producen anticuerpos las cuales también funcionan como células que presentan antígenos), y células asistentes T (Th). Consecuentemente, la producción de una respuesta del anticuerpo efectiva requiere que las células B reconozcan el sitio antigénico objetivo (epítope de células B) de un sujeto inmunógeno y que las células asistentes T reconozcan un epítope de Th. Generalmente, el epítope de asistentes T sobre un sujeto inmunógeno es diferente de su epítope o epítopes de células B (Babbitt *et al.*, *Nature*, 1985; 317:359-361). El epítope de células B es un sitio sobre el objetivo deseado reconocido por las células B las cuales en respuestas producen anticuerpos hacia el sitio objetivo deseado. Se entiende que la conformación natural del objetivo determina el sitio al cual se enlaza el anticuerpo directamente. El reconocimiento de proteínas por las células asistentes T es, sin embargo, mucho más complejo y menos bien entendido. (Cornette *et al.*, *Methods in Enzymology*, vol 178, Academic Press, 1989, pp 611-634).

55 Bajo las teorías presentes, la evocación de una respuesta de células Th requiere que el receptor de las células asistentes T reconozca no el objetivo deseado si no un complejo sobre la membrana de la célula que presenta el antígeno formado entre un fragmento peptídico procesado de la proteína objetivo y un complejo de histocompatibilidad principal clase II asociado (MHC). Así, el procesamiento peptídico de la proteína objetivo y un reconocimiento de tres formas se requiere para la respuesta de la célula asistente T. El complejo de tres partes es particularmente difícil de definir puesto que los residuos de contacto MHC clase II críticos se ubican variablemente dentro de diferentes péptidos de enlace MHC (epitopes Th) y estos péptidos son de longitudes variables con diferentes secuencias de aminoácidos (Rudensky *et al.*, *Nature*, 1991; 353:622-627). Además, las moléculas de MHC clase II en sí mismas son altamente diversas dependiendo del carácter genético del huésped. La inmuno responsividad a un epítope Th particular se determina de esta forma en parte por los genes MHC del huésped. De hecho, se ha demostrado que ciertos péptidos solamente se enlanzan a los productos de alelos MHC clase II particulares. Así, es difícil identificar epítopes Th promiscuos, es decir, aquellos que son reactivos a través de las especies y a través de los individuos de una especie sencilla. Se ha encontrado que la reactividad de los epítopes Th es diferente aún entre individuos de una población.

## ES 2 346 116 T3

Los múltiples y variados factores para cada una de las etapas componentes del reconocimiento de células T: el procesamiento peptídico apropiado por la célula que procesa el antígeno, la presentación del péptido por una molécula MHC clase II genéticamente determinada y el reconocimiento del complejo molecular de MHC/péptido por el receptor sobre las células asistentes T ha hecho difícil determinar los requerimientos para los epítopes Th promiscuos que proporcionan amplias responsividad (Bianchi *et al.*, EP 0427347; Sinigaglia *et al.*, chapter 6 in Inmunological Recognition of Peptides in Medicine and Biology, ed., Zegers *et al.*, CRC Press, 1995, pp 79-87).

Es claro que para la inducción de anticuerpos, el inmunógeno debe comprender el determinante de las células B y el determinante o los determinantes de células mixtas Th. Comúnmente, para incrementar la inmunogenicidad de un objetivo, la respuesta Th se proporciona por el acoplamiento del objetivo a una proteína portadora. Las desventajas de esta técnica son muchas. Es difícil fabricar conjugados de proteína portadores de péptidos bien definidos, seguros, y efectivos por las siguientes razones:

1. El acoplamiento químico son reacciones al azar que introducen heterogeneidad de tamaño y composición, por ejemplo, conjugación con glutaraldehído (Borras-Cuesta *et al.*, *Eur J Immunol*, 1987; 17: 1213-1215);

2. la proteína portadora introduce un potencial para respuestas inmunes indeseables tales como reacciones alérgicas y autoinmunes (Bixler *et al.*, WO 89/06974);

3. la gran proteína portadora de péptido produce respuestas inmunes irrelevantes predominantemente mal dirigidas hacia la proteína portadora más que al sitio objetivo (Cease *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987; 84: 4249-4253); y

4. la proteína portadora también introduce un potencial para la supresión epitópica en un huésped el cual se ha inmunizado previamente con un inmunógeno que comprende la misma proteína portadora. Cuando un huésped se inmuniza subsecuentemente con otro inmunógeno en donde la misma proteína portadora se acopla a un diferente hapteno, la respuesta inmune resultante se mejora para la proteína portadora pero se inhibe para el hapteno (Schutze *et al.*, *J Immunol*, 1985; 135: 2319-2322).

Para evitar estos riesgos, es deseable reemplazar las proteínas portadoras. La célula asistente T puede suministrarse a un péptido antígeno objetivo por enlace covalente a un determinante Th promiscuo bien caracterizado. Los Th promiscuos conocidos se derivan de los antígenos de los agentes patogénicos potentes tales como la proteína F del virus del sarampión (Greenstein *et al.*, *J Immunol*, 1992; 148: 3970-3977) y el antígeno de superficie del virus de hepatitis B (Partidos *et al.*, *J Gen Virol* 1991; 72: 1293-1299). Los inventores presentes han mostrado que muchos de los Th promiscuos conocidos son efectivos para potenciar un péptido pobremente inmunogénico, tal como el decapéptido hormonal de la hormona que libera la hormona luteinizante (LHRH) (Patente Norteamericana 5,759,551). Se han desarrollado otros péptidos quiméricos que comprenden epítopes Th promiscuos conocidos con péptidos sintéticos pobremente inmunogénicos para generar inmunógenos potentes (Borras-Cuesta *et al.*, 1987). Los péptidos quiméricos epítopes de células B/Th promiscuos bien diseñados son capaces de producir respuestas mixtas Th con respuestas anticuerpo resultante seleccionadas para el sitio de la célula B en la mayoría de los miembros de una población genéticamente diversa (Patente Norteamericana 5,759,551).

Una revisión de los epítopes Th promiscuos conocidos muestra que varían en tamaño desde aproximadamente 15 hasta 50 residuos de aminoácidos (Patente Norteamericana 5,759,551) y frecuentemente comparten características estructurales comunes con secuencias de marca específicas. Por ejemplo, una característica común es la presencia de hélices anfipáticas. Estas son estructuras de alfa hélice con residuos de aminoácidos hidrofóbicos dominando una cara de la hélice y residuos cargados y polares dominando las caras que rodean (Cease *et al.*, 1987). Los epítopes Th promiscuos conocidos contienen también frecuentemente patrones de aminoácidos primarios adicionales tales como un residuo cargado, -Gly-, seguido por dos a tres residuos hidrofóbicos, seguido a su vez por un residuo polar o cargado (Rothbard and Taylor, *EMBO J*, 1988; 7:93-101). Los epítopes Th con estos patrones son llamados secuencias de Rothbard. También se ha encontrado que los epítopes Th promiscuos frecuentemente obedecen la regla de 1, 4, 5, 8, en donde un residuo positivamente cargado está seguido por residuos hidrofóbicos en las posiciones cuarta, quinta y octava, consistente con una hélice anfipática teniendo las posiciones 1, 4, 5 y 8 ubicadas sobre la misma cara. Este patrón de aminoácidos hidrofóbicos y cargados y polares puede repetirse dentro de un epítope Th sencillo (Partidos *et al.*, *J Gen Virol*, 1991; 72:1293-99). La mayoría de, si no todos, de los epítopes de células T promiscuos conocidos contienen al menos una de las periodicidades descritas anteriormente.

Los epítopes Th promiscuos derivados de patógenos incluyen los epítopes de superficie de hepatitis B y epítopes del núcleo antígeno de células T asistentes epítopes (HBsAg Th y HBc Th), epítopes de la toxina de tosferina de las células T asistentes (PT Th), epítopes de la toxina del tétano de las células T asistentes (TT Th), los epítopes de la proteína F del virus del sarampión de células T asistentes (MVF Th), epítopes de la proteína de la membrana externa principal de *Chlamydia trachomatis* de células T asistentes (CT Th), epítopes de la toxina de difteria de células T asistente (DT Th), epítopes de circumesporozoito de *Plasmodium falciparum* de células T asistentes (PF Th), epítopes de triosa fosfato isomerasa de *Schistosoma mansoni* de células T asistentes (SM Th), y los epítopes de TraT de *Escherichia coli* de células T asistentes (TraT Th). Las secuencias de estos epítopes de Th derivados de patógenos pueden encontrarse en la Patente Norteamericana 5,759,551 como SEC. DE IDENT. NOS: 2-9 y 42-52 en el mismo; en Stagg *et al.*, *Immunology*, 1993; 79:1-9; y en Ferrari *et al.*, *J Clin Invest*, 1991; 88: 214-222.

# ES 2 346 116 T3

El uso de tales sitios derivados de patógenos para la inmuno-potenciación de sitios peptídicos de células B para la aplicación a LHRH se ha descrito en la Patente Norteamericana 5,759,551, para VIH en Greenstein *et al.* (1992), para malaria en EP 0 427,347, para rotavirus en Borras-Cuesta *et al.* (1987), y para sarampión en Partidos *et al.* (1991).

5 Shaw, M.D. *et al.* (Molecular Immunology, Volúmen 30, No. 11, pág. 961-968, 1993) presentó un informe acerca de un epítope de célula asistente T comprendiendo la secuencia LSEIGKVIVHRLEGV, y un péptido químérico sintético inmunógeno donde un epítope de célula B y un epítope de célula T están enlazadas covalentemente. El péptido químérico inmunógeno está sintetizado por el método de fase sólida sintética utilizando la química Fmoc.

10 Los epítopes Th útiles también pueden incluir epítopes Th combinatorios. En Wang *et al.* (WO 95/11998), se describe una clase particular de epítopes Th combinatorios, "Structured Synthetic Antigen Library" (SSAL). Los epítopes SSAL comprenden una multitud de epítopes Th con secuencias de aminoácidos organizadas alrededor de una estructura de construcción de residuos sin variación con sustituciones en posiciones específicas. Las secuencias de la  
15 SSAL se determinan al retener residuos relativamente sin variación a la vez que se varían otros residuos para proporcionar el reconocimiento de los diversos elementos de restricción MHC. Esto puede lograrse alineando la secuencia de aminoácidos primaria de un Th, promiscuo, seleccionando y reteniendo como la estructura esquelética los residuos responsables para la estructura única del péptido Th, y variando los residuos restantes de acuerdo con los elementos de restricción MHC conocidos. Están disponibles las listas de las posiciones sin variación y variables con los aminoácidos  
20 preferidos de los elementos de restricción MHC para obtener motivos que enlazan MHC. Estos pueden consultarse al diseñar epítopes Th SSAL (Meister *et al.*, Vaccine, 1995; 13:581-591).

25 Los miembros de la SSAL pueden producirse simultáneamente en una síntesis peptídica de fase sólida sencilla en tandem con el epítope seleccionado de célula B y otras secuencias. Las secuencias de biblioteca del epítope Th se diseñan para mantener los motivos estructurales de un epítope Th promiscuo y al mismo tiempo, acomodar la reactividad para un rango más amplio de haplotipos. Por ejemplo, el epítope Th degenerado "SSAL1 TH1" (WO 95/11998), se modeló después de que se tomó un epítope promiscuo de la proteína F del virus del sarampión (Partidos *et al.*, 1991). El TH1 SSAL1 se diseño para usarse en tandem con un antígeno objetivo, LHRH. Como el epítope del sarampión del cual se derivó, el TH1 SSAL1 se diseñó para seguir la secuencia de Rothbard y las reglas 1, 4, 5, 8: y  
30 es una mezcla de cuatro péptidos:

1                    5                    10                    15

35 Asp-Leu-Ser-Asp-Leu-Lys-Gly-Leu-Leu-Leu-His-Lys-Leu-Asp-Gly-Leu

(SEC. DE IDENT. NO: 2)

40 Glu Ile        Glu Ile Arg        Ile Ile Ile        Arg Ile Glu        Ile

(SEC. DE IDENT. NO: 3)

45 Val            Val            Val Val Val            Val            Val

(SEC. DE IDENT. NO: 4)

50 Phe            Phe            Phe Phe Phe            Phe            Phe

(SEC. DE IDENT. NO: 5)

55 Un residuo cargado de Glu o Asp se agrega en la posición uno para incrementar la carga que rodea la cara hidrofóbica del Th. La cara hidrofóbica de la hélice anfipática se mantiene después por residuos hidrofóbicos en 2, 5, 8, 9, 10, 13 y 16. Las posiciones en 2, 5, 8, 9, 10, y 13 se varían para proporcionar un frente con la capacidad de enlazarse a un amplio rango de elementos de restricción MHC. El efecto neto sobre la característica SSAL es agrandar el rango de responsividad inmune del Th artificial (WO 95/11998).

60 Se han hecho otros intentos para diseñar "epítopes Th artificiales idealizados" que incorporan todas las propiedades y características de los epítopes Th promiscuos conocidos. También se han construido diversos inmunógenos peptídicos que comprenden estos epítopes Th promiscuos artificiales incluidos aquellos en la forma de SSAL. Los sitios Th artificiales se han combinado con secuencias peptídicas tomadas de autoantígenos y antígenos extraños para proporcionar respuestas del anticuerpo mejoradas para sitios objetivo específicos (WO 95/11998 Alexander *et al.*, *Immunity*, 1994, 1:751; Del Guercio *et al.*, *Vaccine*, 1997, 15:441) que se han descrito como altamente efectivos. Tales inmunó-

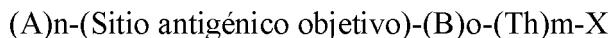
# ES 2 346 116 T3

genos peptídicos se prefieren para proporcionar respuestas del anticuerpo efectivas y seguras y por su inmunopotencia, que surge de una responsividad ampliamente reactiva impartida por el sitio Th promiscuo idealizado descrito.

## Breve descripción de la invención

La presente invención proporciona un epítope de célula asistente T seleccionado del grupo caracterizado porque consiste de SEC. DE IDENT. NO: 6 ó 15. El epítope de célula asistente T de la presente invención es útil para la preparación una composición peptídica inmunogénica que comprende un epítope de célula asistente T artificial promiscuo enlazado a un epítope de célula B peptídico sintético “sitio antigénico objetivo”. El péptido inmunogénico comprende un epítope de células asistentes T artificiales (Th) y un sitio antigénico objetivo que contiene epítopes de células B y, opcionalmente, una secuencia general inmuno estimuladora. La presencia de un epítope Th artificial en el péptido inmunogénico imparte a eso una capacidad para inducir una respuesta inmune fuerte mediada por células asistentes T con la producción de un alto nivel de anticuerpos dirigido en contra del “sitio antigénico objetivo”. La presente invención proporciona adicionalmente la reposición ventajosa de proteínas portadoras y sitios de células asistentes T derivados de patógenos para establecer inmunógenos peptídicos con epítopes de células asistentes T artificiales diseñados específicamente para mejorar su inmunogenicidad. Los inmunógenos péptidos cortos novedosos con los epítopes Th artificiales de la presente invención producen un alto nivel de anticuerpos seleccionados para la hormona que libera la hormona luteinizante (LHRH) útil para la anticoncepción, el control de los tumores dependientes de hormonas, la prevención de mancha de cerdo sin castrar, y la inmunocastración.

Los epítopes Th artificiales se desarrollaron empíricamente, atentos a las reglas conocidas para predecir epítopes de células T promiscuas. En la ausencia de una teoría unificante que explique el mecanismo de los epítopes Th, estas reglas “de predicción” sirven meramente como guías para diseñar epítopes Th artificiales efectivos. Los epítopes Th artificiales de la presente invención se han encontrado útiles cuando se enlanzan a sitios antigénicos objetivo y opcionalmente con una secuencia inmunoestimuladora. Los péptidos inmunogénicos de la presente invención puede representarse por las fórmulas:



30 O



35 O



40 O



45 O



en donde: A es un aminoácido o una secuencia inmunoestimuladora general, por ejemplo, el dominio invasina (Inv) (SEC. DE IDENT. NO: 78) en donde n es más de uno, las A individuales pueden ser las mismas o diferentes;

B se selecciona del grupo que consiste de aminoácidos, -NHCH(X)CH<sub>2</sub>SCH<sub>2</sub>CO-, -NHCH(X)CH<sub>2</sub>SCH<sub>2</sub>CO( $\varepsilon$ N) Lys-, -NHCH(X)CH<sub>2</sub>S-succinimidil( $\varepsilon$ N)Lys-, y -NHCH(X)CH<sub>2</sub>S-(succinimidil)-;

Th es un epítope artificial de células T de asistentes seleccionados del grupo que consiste de SEC. DE IDENT. NO: 6 y 15;

“Sitio antigénico objetivo” es un epítope de célula B deseado, un hapteno peptídico o, un análogo inmunológicamente reactivo del mismo;

X es un aminoácido  $\alpha$ -COOH o -CONH<sub>2</sub>;

n es de 1 hasta 10;

m es de 1 hasta 4; y

o es de 0 hasta 10.

# ES 2 346 116 T3

Un ejemplo de un hapteno peptídico como un sitio antigénico objetivo es LHRH (SEC. DE IDENT. NO: 77).

Las composiciones de la presente invención comprenden péptidos capaces de evocar respuestas de anticuerpo en un huésped inmunizado para un sitio antigénico objetivo deseado. El sitio antigénico objetivo puede derivarse de organismos patógenos y normalmente autoantígenos inmuno silenciosos y objetivos asociados a tumor tales como LHRH.

En consecuencia, las composiciones de la presente invención son útiles en muchas y diversas aplicaciones médicas y veterinarias. Estas incluyen vacunas para proporcionar inmunidad protectora de enfermedades infecciosas, 10 inmunoterapias para el tratamiento de trastornos resultantes del mal funcionamiento de los procesos fisiológicos normales, inmunoterapias para el tratamiento de cáncer, y agentes para intervenir deseablemente y modificar los procesos fisiológicos normales.

Algunos de los antígenos objetivo que pueden enlazarse covalentemente a los epítopes Th de la presente invención 15 incluyen: LHRH para anticoncepción, el control de tumores dependientes de hormonas e inmuno castración; somatostatina para la promoción del crecimiento de animales de granja; IgE para el tratamiento de alergias; el receptor CD4 de células asistentes T para el tratamiento y prevención de la infección VIH y trastornos inmunes; proteína de capsida del virus de la enfermedad de pie-y-boca como una vacuna para la prevención de la enfermedad de pie-y-boca; el antígeno CS de Plasmodium para la prevención de malaria; CETP para la prevención y tratamiento de la arteriosclerosis; y los 20 epítopes virion VIH para la prevención y tratamiento de infección VIH.

## Descripción detallada de la invención

Se proporcionan epítopes Th artificiales idealizados. Estos están modelados sobre dos epítopes Th naturales conocidos y prototipos peptídicos SSAL, descritos en WO 95/11998. Los SSALS incorporan motivos de enlace de moléculas MHC combinatoriales (Meister *et al.*, 1995) que intentan producir respuestas inmunes amplias entre los miembros de una población genéticamente diversa. Los prototipos peptídicos SSAL se diseñaron basados en los epítopes Th de los antígenos del virus del sarampión y el virus de hepatitis B, modificados al introducir motivos de enlace MHC múltiples. El diseño de los otros epítopes Th se modelaron después de otros epítopes Th conocidos al simplificar, agregar, 30 y/o modificar, los motivos de enlace a MHC múltiples para producir una serie de epítopes Th artificiales novedosos. Los sitios Th artificiales promiscuos recientemente adaptados se incorporaron dentro de inmunógenos peptídicos sintéticos llevando una diversidad de sitios antigenicos objetivos. Los péptidos químéricos resultantes fueron capaces de estimular respuestas anticuerpo efectivas a los sitios antigenicos objetivo.

El epítope prototipo artificial de células T asistente (Th) que se muestra en la Tabla 1a como "SSAL1 TH1" (SEC. DE IDENT. NOS: 2, 3, 4, 5) es un epítope Th idealizado modelado de un epítope Th promiscuo de la proteína F del virus del sarampión (Partidos *et al.* 1991). El modelo de epítope Th, que se muestra en la Tabla 1a como "MVF Th" (SEC. DE IDENT. NO: 1) corresponde a los residuos 288-302 de la proteína F del virus del sarampión. El Th MVF (SEC. DE IDENT. NO: 1) se modificó en el prototipo Th1 SSAL1 (SEC. DE IDENT. NOS: 2, 3, 4, 5) al agregar 40 un residuo cargado Glu/Asp en la posición 1 para incrementar la carga que rodea la cara hidrofóbica del epítope; agregando o reteniendo un residuo cargado o Gly en las posiciones 4, 6, 12 y 14; y agregando o reteniendo un residuo cargado o Gly en las posiciones 7 y 11 de acuerdo con la "Regla de Rothbard". La cara hidrofóbica del epítope Th comprende residuos en las posiciones 2, 5, 8, 9, 10, 13 y 16. Los residuos hidrofóbicos comúnmente asociados con los epítopes promiscuos se sustituyeron en estas posiciones para proporcionar los epítopes Th SSAL combinatorios, Th1 45 SSAL1 (SEC. DE IDENT. NOS: 2, 3, 4, 5). Los residuos hidrofóbicos que se conforman a la regla de secuencias de Rothbard se muestran en negritas (Tabla 1a, SEC. DE IDENT. NO: 1). Las posiciones en la secuencia que obedecen la regla 1, 4, 5, 8 se subrayan. Otra característica significativa del prototipo Th1 SSAL1 (SEC. DE IDENT. NOS: 2, 3, 4, 5) es que las posiciones 1 y 4 se repiten imperfectamente como un palíndroma a cada lado de la posición 9, para imitar 50 un motivo de enlace a MHC. Ese patrón palíndrómico "1, 4, 9" de Th1 SSAL1 se modificó adicionalmente en la SEC. DE IDENT. NO: 3 (Tabla 1a) para reflejar más cercanamente la secuencia del modelo Th original MVF (SEC. DE IDENT. NO: 1). También, la hidrofobicidad del prototipo Th1 SSAL1 (SEC. DE IDENT. NOS. 2, 3, 4, 5) se moduló en la SEC. DE IDENT. NO: 6 por la adición de los residuos de metionina en posiciones variables 1, 12, y 14. Los datos experimentales, muestran que la SEC. DE IDENT. NO: 6 acoplada a un sitio antigénico objetivo, mejora la respuesta de anticuerpo en los animales inmunizados en los sitios antigenicos objetivo.

Se encontró que la inmunogenicidad de la SEC. DE IDENT. NO: 6 puede mejorarse al extender la N terminal con un aminoácido no cargado no polar y uno polar, Ile y Ser, y extendiendo la C terminal por un amoniácido cargado e hidrofóbico, Lys y Phe. Esto se muestra en la Tabla 1a como SEC. DE IDENT. NO: 15. Los inmunógenos peptídicos que comprenden un sitio antigénico objetivo y un epítope Th de SEC. DE IDENT. NO: 15 presentaron inmunogenicidad mejorada.

Cada uno de los epítopes Th artificiales novedosos, SEC. DE IDENT. NO. 6 y 15 se acoplaron a una diversidad de sitios antigenicos objetivo para proporcionar inmunógenos peptídicos. Los sitios antigenicos objetivo incluyen las hormonas peptídicas, LHRH y somatostatina, epítopes de células B de inmunoglobulina IgE, el receptor CD4 de la célula T, y la proteína capsida de VP1 del virus de la enfermedad de pie-y-boca; el antígeno cs de *plasmodium falciparum*; y la proteína de transporte colesterol éster (CETP); y los epítopes de célula B del VIH. Los resultados muestran que se producen anticuerpos de sitio anti-objetivo efectivos de reacción cruzada en un grupo diverso de autoantígenos y antígenos extraños. Lo más importante, las respuestas anticuerpo se dirigen a los sitios antigenicos

## ES 2 346 116 T3

objetivo y no a los epítopes Th novedosos. Los resultados para los inmunógenos peptídicos novedosos para LHRH se muestran en las Tablas 2 y 3. Los resultados de inmunogenicidad también muestran que los anticuerpos producidos son efectivos en contra de LHRH pero no en contra de los epítopes Th en sí mismos. Se enfatiza que LHRH es un sitio antigénico objetivo desprovisto de epítopes de célula T (Sad *et al.*, *Immunology*, 1992; 76: 599-603 y Patente Norteamericana 5,759,551). Así, los epítopes Th artificiales novedosos de la presente invención representan una nueva clase de epítopes promiscuos de asistente T.

Los epítopes Th artificiales de la presente invención son secuencias contiguas de aminoácidos (aminoácidos naturales o no naturales) que comprenden un sitio de enlace a la molécula MHC clase II. Son suficientes para mejorar o estimular una respuesta anticuerpo al sitio antigénico objetivo. Puesto que un epítope Th puede consistir de segmentos de aminoácidos continuos o discontinuos, no todos los aminoácidos del epítope Th se involucran necesariamente con el reconocimiento del MHC.

Los epítopes Th promiscuos de la invención se unen covalentemente al N- o C-terminal del sitio antigénico objetivo, para producir inmunógenos peptídicos químéricos de sitio Th/célula B. El término "inmunógeno peptídico" como se usa en la presente se refiere a moléculas que comprenden epítopes Th unidos covalentemente a un sitio antigénico objetivo, ya sea a través de enlaces peptídicos convencionales para formar un péptido más grande sencillo, o a través de otras formas de enlace covalente, tal como un tioéster. En consecuencia, los epítopes Th (por ejemplo, SEC. DE IDENT. NO: 6 y 15) se unen covalentemente al sitio antigénico objetivo (por ejemplo, SEC. DE IDENT. NO: 77) ya sea por medio de acoplamiento químico o por medio de síntesis directa. Los epítopes Th pueden unirse directamente al sitio objetivo a través de un espaciador, por ejemplo, Gly-Gly o ( $\epsilon$ -N)Lys. Además de separar físicamente el epítope Th del epítope de células B (por ejemplo, SEC. DE IDENT. NOS: 41-64, 77-76, 84-90, 92-94, 96-102, 103, 104, 106, 126-129, y 135-153), el espaciador puede desorganizar cualquier estructura secundaria de artefacto creada por el enlace del epítope Th o su homólogo funcional con el sitio antigénico objetivo y eliminar con eso cualquier interferencia con las respuestas Th y/o célula B. Un gozne espaciador flexible que mejore la separación de los dominios Th e IgE también puede ser útil. Las secuencias de gozne flexible son frecuentemente ricas en prolina. Un gozne flexible particularmente útil se proporciona por la secuencia Pro-Pro-Xaa-Pro-Xaa-Pro (SEC. DE IDENT. NO: 79) modelado de la región de gozne flexible encontrada en las cadenas pesadas de inmunoglobulina. El Xaa en el mismo es cualquier aminoácido, preferentemente ácido aspártico. La separación conformacional proporcionada por el espaciador (Ver SEC. DE IDENT. NOS: 80 y 82) permite interacciones más eficientes entre el inmunógeno peptídico presentado y las células Th y las células B apropiadas. Así, las respuestas inmunes al epítope Th se aumenta para proporcionar reactividad inmune mejorada.

Los inmunógenos conjugados peptídicos de la invención pueden también opcionalmente comprender una secuencia peptídica inmunoestimuladora general. Por ejemplo, un dominio de una proteína invasina (Inv) de la bacteria *Yersinia* spp (Brett *et al.*, *Eur J Immunol*, 1993, 23: 1608-1614). Esta propiedad inmunoestimuladora resulta de la capacidad de este dominio de invasina para interactuar con las moléculas de integrina  $\beta 1$  presentes en las células T, particularmente células T de memoria o inmunoactivadas. Una modalidad preferida del dominio de invasina (Inv) para enlace a un epítope Th promiscuo se ha descrito previamente en la Patente Norteamericana 5,759,551. El dominio de Inv tiene la secuencia:

Thr-Ala-Lys-Ser-Lys-Lys-Phe-Pro-Ser-Tyr-Thr-Ala-Thr-Tyr-Gln-Phe

(SEC. DE IDENT. NO:78)

o es un homólogo inmunoestimulador del mismo de la región que corresponde en otra proteína invasina de la especie *Yersinia*. Tales homólogos pueden contener así sustituciones, eliminaciones o inserciones de residuos de aminoácido para acomodar la variación de cepa a cepa, con la condición de que los homólogos retengan las propiedades inmunoestimuladoras. La secuencia general inmunoestimuladora puede unirse opcionalmente al epítope Th con una secuencia espaciadora.

Los conjugados peptídicos de esta invención, es decir, inmunógenos peptídicos que comprenden los epítopes Th artificiales descritos pueden representarse por las fórmulas:

60 (A)n-(Sitio antigénico objetivo)-(B)o-(Th)m-X

o

(A)n-(B)O-(TH)m-(B)O -(Sitio antigénico objetivo)-X

65

5

(A)n-(Th)m-(B)o-(Sitio antigénico objetivo)-X

10

(Sitio antigénico objetivo)-(B)o-(Th)m-(A)n-X

O

(Th)m-(B)o-(Sitio antigénico objetivo)-(A)n-X

en donde: A es opcional y es un aminoácido o una secuencia general inmunoestimuladora, en donde n>1, cada A 15 puede ser la misma o diferente;

B se selecciona del grupo que consiste de aminoácidos, -NHCH(X)CH<sub>2</sub>SCH<sub>2</sub>CO-, -NHCH(X)CH<sub>2</sub>SCH<sub>2</sub>CO( $\epsilon$ -N)Lys-, -NHCH(X)CH<sub>2</sub>S-succinimidil( $\epsilon$ -N)Lys-, y -NHCH(X)CH<sub>2</sub>S-(succinimidil)-;

20 Th es un epítope de célula T asistente artificial (SEC. DE IDENT. NOS: 6 y 15) o un homólogo que mejora inmunidad o un segmento del mismo;

“Sitio antigénico objetivo” es un epítope de célula B deseado o un haptene peptídico, o un análogo del mismo);

25 X es un aminoácido  $\alpha$ -COOH o -CONH<sub>2</sub>;

n es de 1 hasta 10;

30 m es de 1 hasta 4; y

o es de 0 hasta 10.

35 Los inmunógenos peptídicos de la presente invención comprenden de aproximadamente 25 hasta aproximadamente 100 residuos de aminoácido, de preferencia de aproximadamente 25 hasta aproximadamente 80 residuos de aminoácido.

Cuando A es una aminoácido, puede ser cualquier aminoácido que ocurre no naturalmente o que ocurre naturalmente. Los aminoácidos que no ocurren naturalmente incluyen, pero no se limitan a, D-aminoácidos,  $\beta$ -alanina, 40 ornitina, norleucina, norvalina, hidroxiprolina, tiroxina, ácido  $\gamma$ -aminobutírico, homoserina, citrulina y similares. Los aminoácidos que ocurren naturalmente incluyen alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteina, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina. Además, cuando n es más grande que uno, y dos o más de los grupos A son aminoácidos, entonces 45 cada aminoácido puede ser independientemente el mismo o diferente.

45 Cuando A es una secuencia de dominio de invasina, es preferentemente un epítope inmunoestimulador de la proteína invasina de una especie de *Yersinia* descrito aquí como SEC. DE IDENT. NO: 77.

50 En una modalidad en donde n es 3, cada A es a su vez una secuencia de invasina (Inv), glicina y glicina.

B es opcional y es un espaciador que comprende uno o más aminoácidos que ocurren naturalmente o que no ocurren naturalmente. En (B)O, en donde O>1, cada B puede ser la misma o diferente. B puede ser Gly-Gly o Pro-Pro-Xaa-Pro-Xaa-Pro (SEC. DE IDENT. NO: 79) o  $\epsilon$ Nlys o -NHCH(X)CH<sub>2</sub>SCH<sub>2</sub>CO-, -NHCH(X)CH<sub>2</sub>SCH<sub>2</sub>CO( $\epsilon$ -Nlys)-, -NHCH(X)CH<sub>2</sub>S-succinimidil- $\epsilon$ Nlys-, y -NHCH(X)CH<sub>2</sub>S-(succinimidil)-, donde Xaa es un aminoácido.

55 Th es un epítope de célula asistente T promiscuo seleccionado del grupo de las SEC. DE IDENT. NOS: 6 y 15.

En un péptido inmunogéno preferencial de la presente invención, el sitio antigénico objetivo es el repetitivo antígenico *plasmodium falciparum* (Asn-Ala-Asn-Pro)p (SEC. DE IDENT. NO. 103), donde p=4.

60 En un adicional péptido inmunogéno preferencial conforme de la presente invención, el péptido inmunogéno es seleccionado del grupo caracterizado porque consiste en la SEC. DE IDENT. NO: 104 y 152.

65 Los inmunógenos peptídicos de esta invención, pueden hacerse por métodos químicos bien conocidos para el artesano comúnmente experto. Ver, por ejemplo, Fields *et al.*, Chapter 3 in *Synthetic Peptides: A User's Guide*, ed. Grant, W.H. Freeman & Co., New York, NY, 1992, p.77. Los péptidos pueden sintetizarse utilizando la síntesis peptídica de fase sólida Merrifield automatizada con t-Boc o Fmoc para proteger el  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> o los aminoácidos de cadena secundaria.

## ES 2 346 116 T3

El equipo para la síntesis peptídica está comercialmente disponible. Un ejemplo es un Applied Biosystems Peptide Synthesizer Model 430A o 431.

- Después del ensamble completo del inmunógeno peptídico deseado, la resina se trata de acuerdo a los procedimientos estándar para desdoblar el péptido de la resina y desbloquear los grupos funcionales sobre las cadenas secundarias de aminoácidos. El péptido libre se purifica por CLAP y se caracteriza bioquímicamente, por ejemplo, por análisis de aminoácidos, por secuenciación, o por espectrometría de masas. Los métodos de purificación y caracterización peptídica son bien conocidos a alguien con habilidad común en la técnica.
- Otros medios químicos para generar inmunógenos peptídicos que comprenden los epítopes Th de la invención incluyen la ligación de péptidos haloacilados y cisteinilados a través de la formación de un enlace “tioéter”. Por ejemplo, una cisteína puede agregarse a la C terminal de un péptido que contiene Th y el grupo tiol de la cisteína puede usarse para formar un enlace covalente para un grupo electrofílico tal como un grupo  $\text{Na}^+$  cloroacetilo modificado o una maleimida- $\alpha$ -derivada o  $\varepsilon\text{-NH}_2$  de un residuo de lisina, el cual a su vez se une al N terminal de un péptido de sitio antigénico objetivo. En esta forma pueden obtenerse conjugados de sitio epítope Th/Célula B.

El sujeto inmunógeno también puede polimerizarse. La polimerización puede lograrse por ejemplo por reacción entre los grupos glutaraldehído y  $\text{-NH}_2$  de los residuos de lisina usando metodología rutinaria. Por otro método, el inmunógeno de sitio Th/Célula B puede polimerizarse o copolimerizarse por la utilización de una cisteína adicional agregada a la N-terminal de las construcciones lineales. El grupo tiol de la cisteína N-terminal puede usarse para la formación de un enlace “tioéter” con un grupo haloacetyl-aminoácido modificado o una maleimida- $\alpha$ -derivada- o  $\varepsilon\text{-NH}_2$  de un residuo de lisina que se une a la N-terminal de una molécula de núcleo poli-lisil ramificada (por ejemplo, K2K, K4K2K o K8K4K2K). El sujeto inmunógeno también puede polimerizarse como una estructura ramificada a través de la síntesis de la construcción peptídica deseada directamente sobre una resina de núcleo poli-lisil ramificada (Wang, *et al.*, *Science*, 1991; 254:285-288).

Los conjugados peptídicos sintéticos más grandes pueden sintetizarse alternativamente por técnicas de clonación de ácido nucleico bien conocidas. Cualquier tecnología de clonación manual o molecular estándar proporciona protocolos detallados para producir péptidos que comprenden los epítopes Th de la invención por la expresión de DNA y RNA recombinante. Para construir un gen que expresa un Th/péptido de sitio antigénico objetivo de esta invención (por ejemplo, SEC. DE IDENT. NOS: 36-64, 106, 71-76 y 80-82), la secuencia del aminoácido se traduce inversamente en una secuencia de ácido nucleico, usando preferentemente codones optimizados para el organismo en el cual se expresará el gen. Después, se hace típicamente un gen que codifica el péptido al sintetizar oligonucleótidos que se traslanan los cuales codifican el péptido y los elementos regulatorios necesarios. El gen sintético se ensambla e inserta dentro del vector de expresión deseado. La secuencias de ácido nucleico sintéticas comprendidas en esta invención incluyen aquellas que codifican los epítopes Th de la invención y los péptidos que comprenden aquellos epítopes Th, los homólogos inmunológicamente funcionales de los mismos, y las construcciones de ácido nucleico caracterizadas por cambios en la secuencia de no codificación que no alteran las propiedades inmunogénicas del péptido o el epítope Th codificado con el mismo. El gen sintético se inserta dentro de un vector de clonación adecuado y los recombinantes se obtienen y caracterizan. Los epítopes Th y los péptidos que comprenden los epítopes Th se expresan después bajo condiciones apropiadas para el sistema de expresión seleccionado y el huésped. El epítope Th o péptido se purifica y caracteriza por métodos estándar.

Los inmunógenos peptídicos de la invención pueden usarse solos o en combinación para producir respuestas anti-cuerpo a la Hormona que Libera la Hormona Luteinizante. La Hormona que Libera la Hormona Luteinizante (LHRH) o la hormona que libera Gonadotropina (GnRH) es una hormona maestra para la regulación de la reproducción sexual en machos y hembras. La LHRH regula la liberación de LH y FSH las cuales a su vez controlan la espermatogénesis, ovulación y estro, desarrollo sexual. La LHRH finalmente controla la secreción de las hormonas de macho andrógeno y testosterona, y la secreción de las hormonas hembra, estrógeno y progesterona, las cuales en sí mismas son esenciales para la fertilidad en machos y hembras, respectivamente. (*Basic and Clinical Endocrinology*, eds. FS Greenspan y JD Baxter, Appleton & Lange:Norwalk CT. 1994).

Desde hace mucho se conoce que la inmunización activa en contra de la LHRH ejerce efectos múltiples en machos que incluye disminución de suero y LH y FSH de pituitaria, reducción de suero de testosterona, supresión de la espermatogénesis y atrofia reversible de las gonadas y órganos sexuales accesorios (Ver, por ejemplo, Fraser *et al.*, *J. Endocrinol.*, 1974; 63:399-405; Giri *et al.*, *Exp. Molec. Pathol.*, 1991; 54:255-264; Ladd *et al.*, *J. Reprod. Immunol.*, 1989; 15:85-101; y referencias citadas en la misma). La Inmunización en contra de la LHRH ha probado ser útil como un anticonceptivo en machos y tiene potencial como un tratamiento para el cáncer de próstata (Thau, *Scand J Immunol.*, 1992; 36 Suppl 11:127-130; y US 5,759,551).

La Inmuno intervención sobre el eje gonadal hipotalo-pituitaria por la inmunización activa en contra de la LHRH también puede usarse para inhibir las hormonas sexuales en hembras. Puesto que la LHRH regula la producción del FSH por la pituitaria anterior la cual a su vez regula la producción de estrógeno por los ovarios, bloquear la acción de la LHRH es una terapia para las enfermedades dependientes de hormonas sexuales en mujeres. Por ejemplo, el desarrollo ectópico y el mantenimiento de tejidos endometriales fuera de la musculatura uterina se media por estrógenos. Por lo tanto, bloquear la acción de la LHRH es útil como un tratamiento para la endometriosis. Además, por analogía al cáncer de próstata, los tumores de mama impulsados por estrógeno también deben ser responsivos a la inmunoterapia de LHRH. Realmente, una vacuna que induce anti-LHRH ha mostrado reducir efectivamente los niveles de suero de

## ES 2 346 116 T3

LH y FSH en mujeres, una ilustración del potencial de este método para realizar la anticoncepción y el tratamiento de trastornos dependientes de hormonas (Gual *et al.*, *Fertility y Sterility*, 1997; 67: 404-407).

Además de proporcionar tratamiento para un número de enfermedades importantes e infertilidad reversible en 5 hombres y mujeres, la inmunoterapia basada en LHRH proporciona un medio para la anticoncepción reversible en animales machos y hembras (por ejemplo perros, gatos, caballos y conejos) así como mitigar el comportamiento indeseable impulsado por andrógeno tal como calor, señalamiento territorial y agresión.

Finalmente, la castración inmunológica (por ejemplo, la inhibición de la acción de LHRH basada en anticuerpos) 10 tiene aplicación en la industria del ganado. La carne de los animales macho no se procesa en los cortes más escogidos debido a la presencia de un aroma y sabor ofensivo, conocido como mancha de cerdo sin castrar. La mancha de cerdo sin castrar se elimina convencionalmente por castración mecánica; sin embargo, la castración de animales alimenticios macho ya no se considera humana. Además, la castración mecánica resulta en un funcionamiento de crecimiento más pobre y lesiones en la parte del cuerpo, también referidas como cualidades de res muestra, en comparación con 15 animales no castrados. Mientras que el funcionamiento del crecimiento y las cualidades de res muerta de los animales inmunocastrados son menos afectados que aquellos de los animales castrados (Bonneau *et al.*, *J Anim Sci*, 1994; 72: 14-20 y Patente Norteamericana 5,573,767). Por lo tanto, la castración inmunológica es preferible a la castración mecánica.

20 La LHRH (o GnRH) es una automolécula que debe enlazarse a un componente Th para generar anticuerpos anti-LHRH (Sad *et al.*, *Inmunology*, 1992; 76: 599-603). Tales diversas formas inmunogénicas de LHRH se han probado. Por ejemplo, los inmunógenos LHRH se han producido por la conjugación a proteínas portadoras o se enlanzan por síntesis peptídicas a sitios Th potente derivados de organismos patógenos (WO 94/07530, Patente Norteamericana 5,759,551, Sad *et al.*, 1992). Los inmunógenos peptídicos de LHRH mejorados que comprenden epítopes de LHRH y 25 Th artificiales se ejemplifican en los Ejemplos 1-3.

30 Esta invención también proporciona composiciones que comprenden sistemas de suministro farmacéuticamente aceptables para la administración de los inmunógenos peptídicos. Las composiciones comprenden una cantidad inmunológicamente efectiva de uno o más de los inmunógenos peptídico de esta invención. Cuando se formulan así, las composiciones de la presente invención que comprenden LHRH o un homólogo del mismo como un sitio antigénico objetivo, se usan para el tratamiento de cáncer de próstata, prevención de mancha de cerdo sin castrar, inmunocastración de animales, el tratamiento de endometriosis, cáncer de mama y otros cánceres ginecológicos afectados por las hormonas esteroide de gonadal, y para la anticoncepción en machos y hembras. La utilidad para los péptidos de la invención tienen sitios antígenos objetivo diferentes a LHRH varían de acuerdo con la especificidad del sitio 35 antigénico objeto.

40 Los inmunógenos peptídicos de la invención pueden formularse como composiciones inmunogénicas que usan adyuvantes, emulsificadores, portadores farmacéuticamente aceptables u otros ingredientes rutinariamente proporcionados en composiciones de vacuna. Los adyuvantes o emulsificadores que pueden usarse en esta invención incluyen alumbre, adyuvante incompleto de Fround (IFA), liposina, saponina, escualeno, L121, emulsígeno, monofosforil lípido A (MPL), bromuro de dimetildioctadecilamonio (DDA), QS21, e ISA 720, ISA 51, ISA 35 o ISA 206 así como los otros adyuvantes y emulsificadores eficaces. Tales formulaciones se determinan fácilmente por alguien con habilidad común en la técnica y también incluyen las formulaciones para liberación inmediata y/o para liberación sostenida. Las vacunas presentes pueden administrarse por cualquier ruta conveniente que incluye subcutánea, oral, intramuscular, intraperitoneal, u otra ruta parenteral o entérica. Similarmente los inmunógenos pueden administrarse en una 45 dosis sencilla o dosis múltiple. Los itinerarios de inmunización se determinan fácilmente por el artesano comúnmente experto.

50 La composición de la invención presente contiene una cantidad efectiva de uno o más de los inmunógenos peptídicos de la presente invención y un portador farmacéuticamente aceptable. Tal composición en una forma de dosificación unitaria adecuada generalmente contiene aproximadamente 0.5 g hasta aproximadamente 1 mg del inmunógeno peptídico por kg de peso corporal. Cuando se suministra en dosis múltiples, puede dividirse convenientemente en una cantidad apropiada por dosis. Por ejemplo, la dosis, 0.2-2.5 mg; de preferencia 1 mg, puede administrarse por inyección, de preferencia intramuscularmente. Esto puede seguirse por dosis repetida (impulsor). La dosificación dependerá 55 de la edad, peso y salud general del sujeto como es bien conocido en las técnicas terapéuticas y de vacuna.

60 Las vacunas que comprenden mezclas de los inmunógenos peptídicos sujetos, particularmente las mezclas que comprenden sitios Th derivados de Th MVF, es decir, SEC. DE IDÉNT. NOS: 6 y 15 pueden proporcionar inmunodeficiencia aumentada en una población más amplia y proporcionar así una respuesta inmune mejorada a LHRH u otro sitio antigénico objetivo.

65 La respuesta inmune a conjugados peptídicos de Th/LHRH u otros conjugados de sitio antigénico Th/objetivo pueden mejorarse por suministro a través de la captura en o sobre micropartículas biodegradables del tipo descrito por O'Hagan *et al.* (*Vaccine*, 1991; 9:768). Los inmunógenos pueden encapsularse con o sin un adyuvante, y tales micropartículas pueden portar un adyuvante inmunoestimulador. Las micropartículas también pueden coadministrarse con los inmunógenos peptídicos para potenciar las respuestas inmunes.

ES 2 346 116 T3

Como un ejemplo específico, la invención proporciona un método para inducir anticuerpo anti-LHRH al administrar composiciones farmacéuticas que comprenden inmunógenos peptídicos Th/LHRH a un mamífero durante un tiempo y bajo condiciones para producir un estado infértil en el mamífero. Como se usa en la presente un estado infértil es ese estado que previene la concepción. La infertilidad puede medirse por métodos conocidos en la técnica, por ejemplo la evaluación de espermatogénesis u ovulación, así como por modelado estadístico de datos experimentales de animales. Otros indicadores de infertilidad en machos incluyen la reducción de suero de testosterona hasta niveles de castración e involución de los testículos. La dosis apropiada de la composición es aproximadamente 0.5  $\mu$ g hasta aproximadamente 1 mg de cada péptido por kg de peso corporal. Esta dosificación puede dividirse convenientemente en cantidades apropiadas por dosis cuando se suministra en dosis múltiples.

10       Similarmente, las modalidades LHRH de esta invención se refieren a un método para tratar carcinoma dependiente  
de andrógeno al administrar las composiciones peptídicas sujetos al mamífero durante un tiempo y bajo condiciones  
para prevenir el crecimiento adicional del carcinoma. La dosis unitaria apropiada es aproximadamente 0.5 µg hasta  
aproximadamente 1 mg de cada péptido por kg de peso corporal. Esto se divide convenientemente en las cantidades  
apropiadas por aplicación cuando se administra en dosis múltiples.  
15

Adicionalmente, las modalidades LHRH se refieren a un método para mejorar las cualidades organolépticas y suavidad de la carne de animales domésticos macho a la vez que se mantiene el funcionamiento de crecimiento ventajoso de machos intactos. Las hormonas esteroide androgénicas de machos intactos son responsables del crecimiento rápido pero su presencia se acompaña por esteroides no androgénicos (por ejemplo, 5 $\alpha$ -androsteronona) y escatol (un producto del metabolismo microbiano de triptófano) el cual imparte sabor y aroma desagradable a la carne. Esta condición, conocida como mancha de cerdo sin castrar en el caso de cerdos, retrae la calidad de la carne. Sin embargo, por la inmunización activa de machos jóvenes con composiciones que comprenden péptidos LHRH de la invención, sobre un Plan que efectúa la inmunocastración en las semanas justo antes de la matanza, pueden retenese muchas de las ventajas de crecimiento de machos no castrados a la vez que se proporciona carne con sabor y suavidad mejorada.

La eficiencia de la composición peptídica de la presente invención comprende el sitio antigénico objetivo, LHRH, puede probarse por el procedimiento descrito en los Ejemplos 1-3.

30 Otros sitios antigenicos objetivo que han tambien tenido que ser utilizados en inmunogenes de peptido de la presente invencion se describen en los Ejemplos 4-9. Las composiciones de inmunógeno de péptido son útiles para la respuesta inmune inducida en mamíferos contra los antígenos objeto específicos y proporcionar para la prevención o tratamiento de la enfermedad o intervenir en las condiciones fisiológicas normales útilmente modificadas.

### Ejemplo 1

## *Inmunización de ratas con inmunógenos peptídicos que contienen LHRH*

40 Los péptidos listados en las Tablas 2a y 2b se sintetizaron y probaron como se describe posteriormente.

**A. Síntesis peptídica.** Los péptidos listados en las Tablas 2a y 2b se sintetizaron individualmente por la técnica de síntesis de fase sólida de Merrifield sobre sintetizadores peptídicos automatizados Applied Biosystems (Modelos 430, 431 y 433A) usando química Fmoc. La preparación de construcciones peptídicas que comprenden bibliotecas de antígenos sintéticos estructurados (SSALs), por ejemplo, el sitio Th artificial designado SEC. DE IDENT. NO: 6-8, se logró al proporcionar una mezcla de los aminoácidos deseados seleccionados para una posición dada. Después del ensamble completo del péptido deseado o péptidos combinatoriales, la resina se trató de acuerdo al procedimiento estándar usando ácido trifluoroacético para desdoblar el péptido de la resina y desbloquear los grupos protectores sobre las cadenas secundarias de aminoácido.

Los péptidos desdoblados, extraídos y lavados se purificaron con CLAP y se caracterizaron por espectrometría de masa y CLAP de fase inversa.

Los péptidos se sintetizaron para tener el péptido antigénico objetivo LHRH (SEC. DE IDENT. NO: 77) en tandem con cada uno de los epitopes Th como se lista en las Tablas 2a y 2b. Los epitopes Th son aquellos que se muestran en las Tablas 1a y 1b (SEC. DE IDENT. NOS: 6, 12-19, 105, 20-22 y 31-35). Para propósitos de comparación, los inmunógenos peptídicos de la técnica anterior que comprende sitios Th modelo (SEC. DE IDENT. NOS: 36 y 65), y sitios Th prototípico (SEC. DE IDENT. NOS: 37-40 y 66-70) y un conjugado de proteína péptido/portador, KLH-LHRH (Tabla 2b) también se probó y sintetizó. Las construcciones peptídicas Th/LHRH e Inv/Th/LHRH se sintetizaron con gly-gly como un espaciador entre el sitio antigénico objetivo y el epítope Th, y con o sin gly-gly como un espaciador entre el epítope Th y la secuencia inmunoestimuladora Inv. Además, las SEC. DE IDENT. NOS: 80-82 se sintetizaron con la SEC. DE IDENT. NO: 79 como un espacio entre el sitio Th y el sitio antigénico objeto. Los resultados para los inmunógenos peptídicos SEC. DE IDENT. NOS: 80-82 no están aún disponibles.

## ES 2 346 116 T3

B. *Protocolos para inmunización.* Los Inmunógenos peptídicos LHRH mostrados en las Tablas 2a y 2b se evaluaron en grupos de 5 a 10 ratas como se especificó por el protocolo de inmunización experimental resumido posteriormente y por pruebas serológicas para la determinación de inmunogenicidad en muestras de suero:

5      Animales:            ratas macho Sprague-Dawley  
Tamaño de grupo: 5-10 ratas/grupo  
10     Inmunógeno:        inmunógeno peptídico individual  
Dosis:                    cantidad en  $\mu\text{g}$  como se especificó, en 0.5 mL  
15     Adyuvantes:        (1) Adyuvante Incompleto de Freund (IFA); o  
                              (2) Alumbre (hidróxido de Aluminio);  
                              Un adyuvante por inmunógeno por grupo  
20     Plan de dosis:      0, 3, y 6 semanas o 0, 3 semanas como se especificó  
Ruta:                    intramuscular

La sangre se recolectó y procesó en suero y se almacenó antes de ELISA y radioinmunoensayo (RIA) para la determinación de los valores de testosterona en suero.

25     C. *Método para la determinación de inmunogenicidad.* Las actividades de anticuerpo se determinaron por ELISA (pruebas inmunoabsorbentes enlazadas a enzima) usando placas microtítulo de fondo plano de 96 pozos las cuales se recubrieron con el péptido LHRH (SEC. DE IDENT. NO: 77) como inmunosorbente. Las alícuotas (100  $\mu\text{L}$ ) de la solución de inmunógeno peptídico a una concentración de 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  se incubaron durante 1 hora a 37°C. Las placas se bloquearon por otra incubación a 37°C durante 1 hora con una solución de 3% de gelatina/PBS. Las placas bloqueadas se secaron después y se usaron para la prueba. Las alícuotas (100  $\mu\text{L}$ ) de la prueba de suero inmune, iniciaron con una dilución 1:100 en un regulador de dilución de muestra y posteriormente diluciones en serie de diez veces, se agregaron a las placas recubiertas de péptido. Las placas se incubaron durante 1 hora a 37°C.

35     Las placas se lavaron seis veces con 0.05% de Tween® en PBS. 100  $\mu\text{L}$  de peroxidasa de rábano marcada en anticuerpo ganti-rata IgG de cabra se agregó a las diluciones apropiadas en regulador de dilución conjugado (regulador de Fosfato contenido 0.5M de NaCl, y suero normal de cabra). Las placas se incubaron durante 1 hora a 37°C antes de lavarse como anteriormente. Se agregaron después alícuotas (100  $\mu\text{L}$ ) de solución de substrato de o-fenilenediamina. El color se dejó desarrollar durante 5-15 minutos antes que la reacción enzimática colorida se detuviera por la adición de 50  $\mu\text{L}$  de H2SO4 2N. La A492 nm de los contenidos de cada pozo se leyó en un lector de placa. Los títulos de ELISA se calcularon basados en análisis de regresión lineal de las absorbencias, con corte A492nm fijado a 0.5. Este valor de corte fue riguroso puesto que los valores para las muestras control normales diluidas corridas con cada prueba fueron menos de 0.15.

45     D. *Determinación de eficiencia de inmunógeno.* Los inmunógenos se evaluaron por eficiencia por RIA para valores de testosterona en suero. Los niveles de testosterona en suero se midieron usando un equipo RIA de Diagnostic Products (Los Angeles, CA) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. El límite de detección inferior para la testosterona varió de 0.01 a 0.03 nmol/L. Cada muestra se analizó por duplicado. Las muestras de suero se contaron como estando a nivel de castración cuando el nivel de testosterona estuvo abajo de los límites de detección y tan "cerca de la castración" como < 0.1 nMol/L. Los resultados se verificaron por comparación con los niveles de testosterona en suero de ratas castradas mecánicamente.

55     E. *Resultados.* Los resultados de las muestras de suero colectadas en las semanas 10 ó 12 se presentan en las Tablas 2a y 2b. (Los péptidos de las Tablas se ordenan por derivación de sus epitopes Th, como se hizo en las Tablas 1a y 1b). Los datos de ELISA (no mostrados) demostraron que la inmunización de todos los inmunógenos listados resultaron en respuestas de anticuerpo en todos los animales. La eficiencia de las respuestas de anticuerpo anti-peptido, consecuentes con la reactividad cruzada a la LHRH natural, se estableció al determinar los niveles de testosterona en suero. Esos resultados se resumen en la columna derecha de las Tablas 2a y 2b como el número de animales que tienen nivel de castración de testosterona en suero por animales totales en el grupo.

60     Los resultados muestran que los péptidos de la invención, ya sea con un adyuvante fuerte IFA y administrado 3 veces a dosis alta, o con un adyuvante débil Alumbre y administrado dos veces a dosis baja fueron efectivos para producir inmunocastración. La inmunogenicidad de los sitios Th SEC. DE IDENT. NOS: 6, 9 y 15 se mejoraron por la adición de la secuencia de dominio Inv. Ver comparaciones entre SEC. DE IDENT. NOS: 41.44 y 45 y SEC. DE IDENT. NOS: 53 y 60. Aunque, la adición de la secuencia de dominio Inv no resultó siempre en la mejora de la inmunogenicidad, por ejemplo, comparar SEC. DE IDENT. NOS: 51 y 52, SEC. DE IDENT. NOS: 61 y 62, y, SEC. DE IDENT. NOS: 74 y 75. Dos péptidos de la invención (SEC. DE IDENT. NOS: 50 y 76) se probaron solamente a dosis baja con el adyuvante débil y fallaron en causar inmunocastración, pero los resultados con otros péptidos, por

## ES 2 346 116 T3

ejemplo, SEC. DE IDENT. NO: 73, indican que hubieran sido efectivos a una dosis más alta con un adyuvante fuerte. Muchos de los inmunógenos peptídicos LHRH de la presente invención fueron significativamente más efectivos para inducir inmunocastración que el conjugado de KLH/proteína portadora peptídica LHRH o los inmunógenos peptídicos que tienen Th HbsAg (SEC. DE IDENT. NOS: 65 y 66-70). Ver Tabla 2b.

5 También, los inmunógenos peptídicos de la presente invención fueron más fácilmente sintetizados que el péptido/proteína conjugada portadora o los inmunógenos peptídicos que tienen los epítopes Th prototípicos más complejos de la técnica anterior (SEC. DE IDENT. NOS: 2-5 ó 26-30). Todavía, se obtuvo inmunogenicidad de equivalente mejorada con menos y más bajas dosis con los inmunógenos peptídicos que comprende los epítopes Th artificiales de la  
10 presente invención.

15 Un análisis serológico de las respuestas anticuerpo de ratas que habían recibido los péptidos LHRH de la invención demostró que las respuestas anticuerpo a los péptidos se dirigieron específicamente al sitio antigenico objetivo y no a los sitios Th artificiales novedosos. Esta es una ventaja única de estos inmunógenos peptídicos sobre los conjugados convencionales de péptido/proteína portadora. Las muestras de suero de ratas que habían sido inmunizadas con los inmunógenos peptídicos mostrados en la Tabla 3, con dosis de 25 µg sobre Alumbre a 0 y 3 semanas, se compararon por reactividades al sitio objetivo LHRH y al epítope Th por ELISA usando el péptido LHRH (SEC. DE IDENT. NO: 77) y el epítope Th apropiado (SEC. DE IDENT. NO: 15 y 18, 31 ó 34) como substratos de fase sólida en ELISA basada en péptido. Los resultados para estas ELISA se presentan en la Tabla 3 los cuales muestran que a pesar de la responsividad de alto título a la porción LHRH de los conjugados peptídicos Th/LHRH, las reactividades para los sitios Th artificiales estuvieron a niveles básicos.  
20

### Ejemplo 2

#### *Mezcla peptídica LHRH para inducción de inmunocastración mas amplia en ratas*

30 Se establecieron las eficacias relativas de las diversas construcciones artificiales de epítope Th/LHRH como se mostró anteriormente en el Ejemplo 1, permitió la selección de los más efectivos para ensamblarse dentro de una mezcla peptídica de inmunogenicidad aumentada. Una mezcla de Inmunógenos peptídicos Th/LHRH es más eficaz que cualquier péptido individual dentro de la mezcla (Patente Norteamericana 5,795,551). Además, una mezcla de construcciones individuales portando epítopes Th promiscuos derivados de Th MVF (SEC. DE IDENT. NO: 1) y Th HBsAg (SEC. DE IDENT. NOS: 23-25) proporciona una respuesta más amplia en una población genéticamente diversa que una composición peptídica que tuviera epítopes Th derivados de solamente un epítope Th promiscuo. Por 35 lo tanto, una composición peptídica que comprende una mezcla de péptidos de la invención derivados de Th MVF y HbSAg Th se ensambló y la eficiencia de la mezcla se probó y comparó a las composiciones que comprenden los péptidos individuales de la mezcla.

40 Los grupos de 6 u 8 ratas macho se inmunizaron con dosis de 25 µg (dosis total) de las composiciones peptídicas indicadas en la Tabla 4. Los péptidos en la mezcla se combinaron en proporciones equimolares. Los péptidos se formularon con 0.4% de Alumbre y se administraron intramuscularmente en las semanas 0 y 3. Los niveles de testosterona en suero se siguieron durante 22 semanas y los resultados se contaron como número de animales con nivel de castración de testosterona por número total de animales en el grupo. Estos resultados se presentan en la Tabla 4. Se muestra que las dosis bajas de composiciones peptídicas, dadas con un adyuvante relativamente inefectivo, lograron niveles de castración de testosterona por la semana 5, y que esta respuesta se mantuvo hasta la semana 22. Además, la mezcla peptídica se desempeñó significativamente mejor que una de las composiciones peptídica que comprenden un péptido individual. Puede suponerse que la mezcla habría mostrado inmunogenicidad mejorada sobre la otra composición peptídica individual si los números de animales experimentales hubieran sido más grandes y más representativos de una población verdadera.  
50

### Ejemplo 3

#### *Mezcla peptídica LHRH y formulaciones para la inmunocastración de cerdo*

55 Un grupo de animales de prueba han mostrado ser más ampliamente respondiente a una mezcla de inmunógenos peptídicos con diferentes epítopes Th que a una composición que contiene un inmunógeno peptídico sencillo. Sin embargo, para la prevención de mancha de cerdo, es necesario que los inmunógenos peptídicos LHRH inmunopotentes sean suficientemente potentes para producir la respuesta deseada en la mayoría de los animales mientras que es aceptable para uso en animales alimenticios. Es importante que no exista efecto inmediato adverso a la velocidad de crecimiento y que ningún residuo de inmunógeno peptídico o el adyuvante se deje en la carne o cause lesiones en las partes comerciales de la res muerta.

60 Para evaluar la inmunogenicidad útil de una mezcla de péptidos LHRH de la invención, la mezcla se administró al cerdo en tres formulaciones ya sea en 0.4% de Alumbre, IFA, o ISA 206/DDA. ISA 206/DDA es una emulsión de aceite/agua en la cual bromuro de dimetidioctadecilamonio (DDA) se dispersa en MONTANIDE® ISA 206 a 30 mg/ml (MONTANIDE® ISA 206 es una solución aceitosa metabolizable suministrada por SEPPIC Inc. de Fairfield, NJ). La suspensión en aceite se emulsificó después a una relación en volumen 1:1 dentro de una solución peptídica

# ES 2 346 116 T3

acuosa la cual se había ajustado para una concentración peptídica para proporcionar la dosis deseada de péptido en 0.5 mL de la preparación final.

## Protocolo de la inmunización

5	Animales:	machos cerdos híbridos Yorkshire Hampshire Cross Swine,
		3-4 semanas de edad no castrados
10	Tamaño de grupo:	2-3 animales/grupo
	Inmunógeno:	Mezcla Equimolar de SEC. DE IDENT. NOS: 5758, 71 y 75,
15	Dosis:	400 µg de péptido(s) en 0.5 mL
	Adyuvantes:	(1) 0.4% de alumbre, (2) IFA, (3) ISA 206/DDA
20	Plan:	0,4, y 13 semanas o 0,4 semanas,
	Ruta:	Intramuscular

25 La eficiencia de las formulaciones inmunógeno peptídicas se monitoreo probando las muestras de suero de cerdo recolectadas a través del curso del estudio, los resultados se presentan gráficamente en las Figuras 1-3. Las pruebas incluyen un RIA para la determinación de la presencia de anticuerpos de reacción cruzada a la LHRH nativa en solución como se describe posteriormente, y un RIA para testosterona como se describió en el Ejemplo 1. Además, el área de la sección transversal de testículos promedio se determinó por palpitación con un calibrador.

30 35 El antisuero para el anti-LHRH RIA se diluyó 1:100 en 1% de albúmina de suero bovino (BSA), pH 7.4. Un volumen igual de suero diluido se agregó a 100 µL de [125I]-LHRH (New England Nuclear Company, Boston, MA) diluyó en 1% de BSA para contener aproximadamente 15,000 cpm para 5.25 pg LHRH. La solución se incubó toda la noche a temperatura ambiente y el anticuerpo unido a LHRH se precipitó con 400 µL de 25% de polietilenglicol (Peso Molecular 8,000) en solución reguladora salina de fosfato 0.01 M (PBS), pH 7.6, y 200 µL de 5 mg/mL de gammaglobulina bovina en PBS. Las concentraciones de anticuerpo Anti-LHRH se expresan como nmol iodinados unidos a LHRH por litro de suero (Ladd *et al.*, 1988, *Am J Reprod Immunol*, 17:121-127).

40 Los resultados se representan gráficamente en las Figuras 1-3 para las tres pruebas. Los intervalos a los cuales se administraron los inmunógenos se muestran por filas en el fondo de las gráficas. Las determinaciones para los animales experimentales individuales en cada figura se representan por los círculos, triángulos, y cuadrados sólidos. El cerdo respondió inmunológicamente a las tres formulaciones, como se muestra por la presencia de anticuerpo anti-LHRH y la supresión concomitante de testosterona.

45 La preparación de alumbre (Figura 1) fue menos efectiva para producir un nivel menor de respuestas de anticuerpo. Un animal de este grupo no logró el nivel de castración de testosterona hasta la semana 11 y ambos animales en este grupo no manifestaron la completa involución de los testículos. Los animales del grupo de alumbre no recibieron inmunizaciones en la semana 13, y los efectos del tratamiento se invirtieron.

50 Los animales del grupo IFA (Fig. 2) exhibieron niveles más altos de respuestas anticuerpo, con dos de tres alcanzando y manteniendo un nivel de castración de testosterona por la semana 6. Sin embargo, con la administración de una dosis impulsora en la semana 13, el cerdo menos respondiente de los tres falló en responder y revirtió a un nivel normal de testosterona y a testículos no involucionados. Los dos animales responsivos de este grupo lograron completa 55 involución de los testículos por la semana 23.

60 Ambos cerdos del grupo ISA 206/DDA (Fig. 3) proporcionaron niveles altos y relativamente uniformes de respuestas anticuerpo. Los niveles de inmunocastración de testosterona en este grupo se lograron por la semana 9 y se mantuvieron establemente a través de la semana 12. Ambos animales fueron responsivos al impulso en la semana 13 y mantuvieron niveles de castración de testosterona. Los testículos de ambos animales fueron indetectables por la semana 23.

65 De los resultados obtenidos de la formulación ISA 206/DDA, así, más preferida para la prevención de mancha de cerdo. Efectos altos y uniformes sobre los dos animales se lograron con la formulación ISA 206/DDA. Además, la formulación es más aceptable en cerdo en comparación con la formulación IFA la cual causó lesiones debido aparentemente a que la formulación IFA no se metaboliza prontamente.

## ES 2 346 116 T3

### Ejemplo 4

#### *Inmunógenos de somatostatina para la promoción del crecimiento en animales de granja*

5 Los inmunógenos de la invención pueden usarse solos o en combinación para producir anticuerpos para somatostatina. La somatostatina es un inhibidor principal del crecimiento somático total. Es una hormona peptídica típica de 14 aminoácidos (SEC. DE IDENT. NO: 80, Tabla 5) y su estructura se conserva a través de las especies. La somatostatina inhibe la liberación de muchas hormonas gastrointestinales así como también inhibe la liberación de la hormona de crecimiento, insulina, y hormonas tiroideas afectando con eso la habilidad del animal para absorber nutrientes y su 10 subsecuente habilidad para dirigir estos nutrientes dentro del crecimiento de tejido. La neutralización de somatostatina. Por inmunización a mostrado estimular el crecimiento en ovejas, cabras pollos y puerco (Spencer, *Dom Anim Endocr*, 1986; 3:55; Spencer *et al.*, *Reprod Nutr Develop*, 1987; 27(2B):581; Laarveld *et al.*, *Can J Anim Sci*, 1986, 66:77), and Cattle (Lawrence *et al.*, *J Anim Sci*, 1986, 63(Suppl): 215).

15 Además de estimular la velocidad de crecimiento y conducir aún 20% de reducción en el tiempo de crianza (Spencer, 1986; Spencer *et al.*, 1987) la inmunización activa en contra de somatostatina también tiene un efecto beneficiosos sobre la eficiencia de la conversión de alimento es decir, además de ahorrar en la alimentación por virtud de crecimiento más rápido, los animales actualmente utilizan su alimento más eficientemente durante el periodo de crecimiento, al menos parcialmente como un resultado de cambios en la movilidad del intestino (Fadlalla *et al.*, *J Anim Sci*, 1985, 61:234). El tratamiento no tiene ningún efecto marcado sobre la composición de la red muerta (Spencer *et al.*, 1987) pero hubo indicaciones que, cuando se mata a pesos iguales, los animales tratados pueden ser menos grasos y magros. Tomados todos los datos experimentales juntos, la inmunización activa efectiva para somatostatina (como se evidencia por la presencia de anticuerpos antisomatostatina) es una herramienta poderosa, segura, y efectiva para mejorar el crecimiento (Spencer, 1986).

25 Sin embargo, la somatostatina es un péptido corto y un autoantígeno y es no inmunogénico por si mismo (ver Tabla 5). No obstante, diversas formas inmunogénicas de somatostatina se han diseñado y probado como se reporta en la literatura. Por ejemplo, la somatostatina se ha conjugado con portadores de proteína para mejorar la inmunopotencia, sin embargo, los portadores de proteína son demasiados caros para el uso económico en animales de granja. 30 Además, la inmunización efectiva con somatostatina es latamente dependiente de cómo se conjuga el portador a la somatostatina. En la mayoría de los casos, se emplea glutaraldehído como el portador para acoplar con los residuos de glicina presentes sobre la somatostatina y el glutaraldehído. Las dos lisina sobre la somatostatina disponibles para el acoplamiento residen dentro de una ondulación funcional de 12-mer. La conjugación de estas lisinas puede resultar en pérdidas significativas de la estructura de somatostatina nativa. Como un resultado, se reduce la reactividad cruzada a 35 la somatostatina natural con los anticuerpos. Además, con los portadores de proteína, la mayoría de las respuestas inmunes se dirigen al portador más que a la somatostatina (la masa de la molécula(s) portadora es mucho más grande que la de la somatostatina). La inmunización con un conjugado portador de péptido pequeño a conducido frecuentemente a la supresión inmune inducida por portador (Schutz *et al.*, *J Immunol*, 1985, 135:2319). En consecuencia, existe una necesidad para una forma diferente de mejorar la inmunogenicidad que sea más adecuada par el uso de animales de 40 granja. La vacuna debe ser barata y capaz de estimular una respuesta inmune temprana y fuerte a la somatostatina y evita la supresión inducida por portador.

Los inmunógenos peptídicos o somatostatina/epítope Th mostrados en la Tabla 5 se sintetizaron y administraron a ratas. El efecto de la inmunización se determinó por ELISA peptídica como se describió en el Ejemplo 1. Se usó somatostatina ciclizada en uno de los inmunógenos peptídicos (SEC. DE IDENT. NO: 80) probados y en la prueba como el sustrato de fase sólida en ELISA. Para ciclar completamente la somatostatina, el péptido desdoblado se disolvió en 15% de DMSO en agua durante 48 horas para facilitar la formación del enlace intradisulfuro.

De los resultados mostrados en la Tabla 5, es claro que la somatostatina sola está desprovista de inmunogenesidad 50 mientras que los inmunógenos peptídicos de la presente invención produjeron altos títulos de anticuerpos específicos para somatostatina en los huéspedes inmunizados. Las respuesta antisomatostatina generadas para SEC. DE IDENT. NO: 81-83, SEC. DE IDENT. NO: 84-86 y SEC. DE IDENT. NO: 87, con epítopos Th (SEC. DE IDENT. NOS: 6, 7, 8 y 31) muestra la efectividad de los epítopos Th. Sin embargo, una comparación cercana de los títulos de anticuerpos para inmunogenesidad muestra que es preferible colocar el epítope Th sobre el C-terminal. Los resultados 55 para SEC. DE IDENT. NOS: 84-86, con el epítope Th como SEC. DE IDENT. NOS: 6, 7, 8 muestra que se produjo un nivel más temprano más alto de anticuerpos. Los resultados de la Tabla 5 ilustran la fuerte respuesta anticuerpo a la inmunización con las composiciones de Th/somatostatina artificiales, estableciendo con eso la utilidad de estos péptidos de esta invención para la promoción del crecimiento en animales de granja.

### Ejemplo 5

#### *Composición peptídica para la prevención para la infección VIH*

65 Los inmunogénicos peptídicos comprenden sitios Th artificiales idealizados de la presente invención y un sitio antígenico objetivo de reacción cruzada a un complejo de célula huésped receptor/correceptor para VIH puede usarse para producir anticuerpos para ese complejo de célula huésped en el huésped inmunizado. El complejo el cual se localiza sobre la superficie de los linfocitos del huésped que expresan CD 4 comprenden CD4 asociados con un

# ES 2 346 116 T3

dominio receptor de quimiocina. Este complejo es el receptor primario para la entrada de VIH dentro de las células T. Los anticuerpos dirigidos a este complejo CD4 bloquean las interacciones entre VIH y su receptor, y las interacciones entre las células T que expresan CD4 y CD-4 Clase romano II y otras células T activadas. Así, los anticuerpos dirigidos a este complejo tienen amplias actividades neutralizantes en contra de aislados primarios de VIH-1 VIH-2, y SIV e intervienen en la inmunosupresión de las respuestas inmunes mediadas por células CD4+ (WO 97/46697).

Los inmunogénicos peptídicos relevantes al sitio antigénico complejo CD4 pueden formularse sencillamente o en combinación para la generación, por inmunización activa en mamíferos que incluyen humanos, altos títulos de anticuerpos en suero para el complejo CD4 estos anticuerpos son útiles para la prevención y tratamiento de la infección del virus de inmunodeficiencia así como para el tratamiento de respuesta inmunes indeseables tales como rechazo de transplante, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, y psoriasis.

Se diseña un inmunógeno péptido epítope Th/sitio antigénico objetivo artificial con una secuencia modificada del dominio parecido a CDR2- de CD4 como el sitio antigénico objetivo. El sitio modificado comprende una secuencia peptídica tomada del dominio parecido a CDR2 de humanos CD4 (aminoácidos 39-66 de acuerdo con el sistema de numeración de Maddon *et al.*, Cell, 1985; 42:93; y Littman *et al.*, Cell, 1988; 55:541) modificado como sigue: (1) la inserción de residuo cisteína al lado N-terminal de la posición 39 de la secuencia CD4 que ocurra naturalmente, (2) la inserción de un residuo cisteína en el lado C-terminal en la posición 66 del mismo, y (3) la formación de un enlace disulfuro entre la cisteína insertada para producir una estructura cíclica. Se proporciona el sitio optimizado y modificado (es decir, ciclizado) para CD4-CDR2 de las siguientes secuencias:

1. Cys-Asn-Gln-Gly-Ser-Phe-Leu-Thr-Lys-Gly-Pro-Ser-Lys-Leu-Asn-  
25 Asp-Arg-Ala-Asp-Ser-Arg-Arg-Ser-Leu-Trp-Asp-Gln-Gly-Asn-Cys  
(SEC. DE IDENT. NO:88)

30 Para completa la ciclización, el péptido modificado se disolvió en 15% de DMSO en agua durante 48 horas para facilitar la formación del enlace intra-disulfuro entre la cisteína la SEC. DE IDENT. NO: 84 se incorporó dentro del inmunógeno peptídico:

35 (SEC. DE IDENT. NO:6,7,8)-GG-(SEC. DE IDENT. NO:88)  
(SEC. DE IDENT. NO:89-91)

40 La inmunogenicidad en cobayos de SEC. DE IDENT. NO: 85 formulados en ISA 206/DDA, 100 µg/dosis, dada en la semana 0, 3, 6, se evaluó. La inmunogenicidad se determinó por ELISA peptídica como se describió en el EJEMPLO 1 Usado el péptido de sitio antigénico objetivo ciclizado como el sustrato de fase sólida en la ELISA. El conjugado marcado fue específico para cerdo y IgG. Seis de seis cobayos fueron exitosamente seroconvertidos por la reactividad de ELISA obtenida. Es significativo que SEC. DE IDENT. NO: 85 se haya encontrado ser altamente inmunogénica y es funcional en un animal grande.

45 Una composición inmunogénica que comprende SEC. DE IDENT. NO: 85 se formó en IFA, 300 µg/dosis, y se administró a un cerdo por inyección intramuscular por en la semana 0, 3, y 6. El cerdo seroconvertido y el suero de la semana 8 se probó por actividad de neutralización en contra de un aislado primario de VIH-1. La actividad de neutralización se probó sobre VIH-1 VL135, un aislado primario del subtipo B, por Prueba de Neutralización en Microplaca de MT-2 (Hanson *et al.*, J Clin Microbiol, 1990; 28:2030; WO 97/46697). La muestra de suero de cerdo proporcionó 50% de neutralización de virus a una dilución de 1:249, y 90% de neutralización a 1:97. Por lo tanto, la inmunización de un animal huésped grande con una composición de inmunógeno peptídico de la presente invención produce anticuerpos que se enlanzan al receptor de la célula huésped que comprende CD4 y neutraliza VIH.

55 Ejemplo 6

## Composición peptídica para el tratamiento de alergia

60 Los inmunógenos peptídicos que comprenden los sitios Th artificiales idealizados de la invención y un sitio antigénico objetivo de reactividad cruzada con un sitio vector sobre el tercer dominio constante (CH3) de la cadena pesada epsilon (ε) de IgE se proporciona. Los inmunógenos pueden usarse para producir anticuerpos para el sitio efector IgE en el huésped inmunizado. Ese sitio efector IgE-CH3 se modifica de un segmento del dominio CH3 de la cadena pesada epsilon de IgE humana (aminoácidos 413-435 (Dorrington and Bennich, 1978; 41:3). Se modifica de esas secuencias IgE que ocurre naturalmente como sigue: (1) inserción de un residuo cisteína en el lado de N-terminal en la posición 413 (2) sustitución de la cisteína nativa en la posición 418 de la secuencia IgE nativa porcina, (3) inserción de cisteína en el lado del C-terminal en la posición 435, y (4) formación de un enlace disulfuro entre la cisteinas en

# ES 2 346 116 T3

los términos N- y C- para producir una estructura cíclica. Por este proceso el sitio antígeno objetivo para IgE humana se optimiza.

5        2. **Cys-Gly-Glu-Thr-Tyr-Gln-Ser-Arg-Val-Thr-His-Pro-His-**

10      3. **Leu-Pro-Arg-Ala-Leu-Met-Arg-Ser-Thr-Thr-Lys-Cys**

(SEC. DE IDENT. NO.:92)

15      Las sustituciones de aminoácidos de la secuencia natural se muestran en negritas. Los resultados muestran que los anticuerpos policlonados producidos tienen especificidad para el sitio del sector CH3 de IgE en el huésped inmunizado. Evitan la sensibilización de células mast y basófilos por IgE, evitando con eso el disparo y activación de células mast/basófilos y conduce a la regulación a la baja de la síntesis de IgE. Además, los anticuerpos producidos por péptidos mostrados en la Tabla 6 con que comprenden este sitio antigenógeno objetivo son de reactividad cruzada con IgE humana, y estos anticuerpos son seguros y no anafilactogénicos. Además, los anticuerpos no reticulan el enlace IgE al receptor celular de alta afinidad para inducir desgranulación.

20      Los conjugados peptídicos relevantes al sitio antigenógeno IgE-C3 pueden formularse sencillamente o en combinación y usarse para inmunizar mamíferos que incluyen humanos para generar altos títulos de anticuerpos en suero, los cuales son útiles para la prevención y tratamiento de síntomas alérgicos.

25      Los inmunogénicos peptídicos que incorporan el sitio objetivo IgE-CH3 modificado (SEC. DE IDENT. NO: 92) se muestran en la Tabla 6 como SEC. DE IDENT. NOS: 87-90. Estos inmunógenos peptídicos se usaron para inmunizar grupos de 3 cobayos usando 100 µg/dosis, formulados en CFA en la semana 0, IFA en la semana 3 y 6, y administrados intramuscularmente. Para comparación, se inmunizo un grupo de 2 animales con un conjugado de proteína portadora peptido/KLH a 200 µg/dosis, similarmente administrada. Los resultados de ELISA de muestras de suero recolectadas en la semana 8 se muestran. En la ELISA se uso una proteína de mieloma IgE humano (American Biosystem, Inc. cat. no. A113) como el inmunoabsorbente de fase sólida. El procedimiento usado fue idéntico a las ELISA basadas en péptido descritas previamente, excepto que se uso el mieloma IgE como el inmunoabsorbente de fase sólida. Así, los resultados demuestran reactividad cruzada con IgE humana. Los resultados de ELISA también demostraron que y todas las construcciones fueron inmunogénicas con reactividad cruzada para IgE humana, con los inmunógenos peptídicos de la presente invención proporcionando superior inmunogenicidad. La inclusión de la secuencia de dominio Inv (SEC. DE IDENT. NO: 78) aumentaron la inmunogenicidad, como se muestra por la inmunogenicidad aumentada SEC. DE IDENT. NO: 99 sobre SEC. DE IDENT. NO: 98.

40      Para probar los anticuerpos IgE antihumanos en pruebas para actividad y seguridad biológica, se produjo suero hiperinmune de cobayo en contra de SEC. DE IDENT. NO: 98 y 99. El procedimiento es como se describió anteriormente, excepto que los animales también recibieron una dosis impulsora del inmunógeno peptídico en IFA en la semana 10. Los anticuerpos IgE de cobayo se purificaron y la habilidad de los anticuerpos purificados para inhibir la sensibilización de basófilos humanos por alergenos-IgE específicos se determinó como sigue:

45      Los anticuerpos IgG de cobayo se purificaron por cromatografía de afinidad de Proteína A (ImmunoPure® Immobilized Recomb® Protein A, Pierce) de suero recolectado en las semanas 8 y 12. El suero de los animales inmunizados con SEC. DE IDENT. NOS: 98, 99 se reunió. Los anticuerpos eluidos se prepararon a una concentración estándar de 8 mg/mL en 25 mM de regulador PIPES, 0.15M NaCl, pH 7.2. Se preparó una preparación de anticuerpos control del suero reunido de cobayo inmunizados con un inmunógeno peptídico irrelevante. Estos anticuerpos se usaron en pruebas que midieron la reducción en la sensibilización mediada por IgE de basófilos humanos. Los basófilos humanos se prepararon de la sangre venosa de voluntarios usando centrifugación a través de gradientes de densidad de Percoll (MacGlashan. J Allergy Clin Immunol, 1993; 91:605-615). Las bandas de leucocitos, se recolectaron, lavaron, y resuspendieron en 0.1 mL de regulador de PAGCM como se describe (MacGlashan, 1993) excepto que el regulador PAGCM usado para suspender las células se hizo con agua que contiene 44% de D2O. El IgE usado para la prueba fue alergeno específico, ya sea IgE específico BPO humano o IgE humano químérico que tiene dominios variables insertados con especificidad para glicoproteína gp120 VIH. El IgE alergeno específico a 0.25 µg/mL se pre-encubrió durante 15 minutos a 37°C con un volumen igual del, anticuerpo purificado a 8 mg/mL. El volumen total fue 0.1 mL. La mezcla de anticuerpos se agregó a él y se incubó durante 20 minutos para permitir la sensibilización de los basófilos por IgE no complejado. Lo sensibilizado se estimuló después por la adición del alergeno, ya sea BPO21-HSA o un polipéptido gp120 como se describió. (MacGlashan. 1993). Después de un periodo de incubación apropiado (usualmente 45 minutos), los basófilos se separaron del sobrenadante y el sobrenadante se probó por contenido de histamina por una técnica fluorimétrica automatizada (Siraganian, Anal Biochem, 1974; 57: 383-394). Todas las reacciones se realizaron por duplicado. El por ciento de liberación de histamina se calculó de la relación de la muestra a la histamina total menos ambas de las cantidades de liberación de histamina de espontánea. La liberación de histamina por anticuerpos experimentales para la liberación de histamina por el anticuerpo control de especificidad irrelevante se comparó y se obtuvo la relación. (Las pruebas de liberación de histamina sobre basófilos humanos se realizó gentilmente bajo condiciones codificadas por el Dr. Donald W. MacGlashan, The Johns Hopkins University School of Medicine, Johns Hopkins Asthma and Allergy Center, Baltimore). La inhibición específica de la liberación de histamina por la anti-IgE de sitio específico fue de 61% y 71% para los anticuerpos purificados de las sangrías tomadas en las semanas 8 y 12, respectivamente.

## ES 2 346 116 T3

Estos anticuerpos policlonales inducidos activamente se probaron después adicionalmente por seguridad. Se probaron por la habilidad o inhabilidad para reticular IgE enlazada al receptor e inducir la liberación espontánea de histamina en la ausencia de alergeno. Esto establece y son o no son anticuerpos anti-IgE no anafilactogenicos. Una preparación de anti-SEC. DE IDENT. NO: 98 de cobayo se probó por reto directo de basofilos sensibilizados a IgE-en ausencia de alergeno, para evaluar su habilidad para reticular IgE enlazada al receptor e inducir la desgranulación. La liberación de histamina por anti-SEC. DE IDENT. NO: 98 fue equivalente al nivel de liberación de histamina espontanea por las células donadoras. Basadas en este resultado, se concluyo que el anticuerpo de especificidad para el sitio antigénico objetivo de SEC. DE IDENT. NO: 98, es decir, SEC. DE IDENT. NO: 92, no es anafilactogénico.

La preparación anti-SEC. DE IDENT. NO: 98 de 12 semanas también se evaluó para especificidad de IgE para determinar el potencia de estos anticuerpos para inmunosupresión especificación de isotipo. La reactividad cruzada de anti-SEC. DE IDENT. NO: 98 de anticuerpos de cobayo IgE humana y para IgG se comparo por ELISA. El procedimiento se describe para IgG humana. Para ELISA IgG humana, se uso IgG humana como el inmunosorbente de fase sólida.

Las placas de ELISA IgE se recubrieron con el mieloma IgE humano a 5 µg/mL. Para la ELISA IgG, las placas se recubrieron con IgG purificada humana (reactivo Sigma grado humano IgG), también a 5 µg/mL. La anti-SEC. DE IDENT. NO: 98 de cobayo purificado se probó por reactividad en ambas ELISAs a concentraciones de 0.5 y 0.1 µg/mL. Los resultados se compararon a los anticuerpos purificados de fuero de cobayo control y a un control "no anticuerpo". Los valores de A490 obtenidos para anti-SEC. DE IDENT. NO: 98 anticuerpo sobre IgE fueron 1.126 a 0.5 µg/mL y 0.344 a 0.1µg/mL. Los valores de A490 obtenidos para anticuerpo SEC. DE IDENT. NO: 98 sobre IgG fueron iguales al anticuerpo control y valores antecedentes. Esto muestra que no hubo reactividad cruzada de la anti-SEC. DE IDENT. NO: 98 de cobayo a IgG humana.

La composición inmunogénica peptídica de la presente invención no produce anticuerpos que reconocen anticuerpos IgG, y por lo tanto son isotipo específicos para IgE. Así, puede concluirse que la inmunización activa con inmunógenos de sitio antigénico objetivo mixtas Th/IgE de la invención producen anticuerpos anti-IgE no anafilactogénicos seguros. Los anticuerpos fueron efectivos para inhibir la sensibilización mediada por IgE, y presentaron un potencial inmunosupresivo específico para los anticuerpos de isotipo IgE.

### Ejemplo 7

#### *Composición peptídica para la prevención de la enfermedad de pie y boca*

Los inmunógenos peptídicos que comprenden sitios Th artificiales idealizados de la invención y un sitio antigénico objetivo de reacción cruzada al "Ondulación G-H" sobre la proteína de capsid VP1 del virus de la enfermedad de pie y boca (FMDV), puede usarse para producir anticuerpos neutralizantes para FMDV.

La enfermedad de pie y boca (FMD) es la enfermedad más económicamente importante del ganado doméstico. Las especies de pata hinchada que incluyen ganado, cerdos, ovejas y cabras son susceptibles. Se han descrito siete distintos serotipos: A, O, C, Asia, y los tipos Sudáfricanos SAR-1, 2, y 3 cada uno de los cuales puede subdividirse en múltiples subtipos. Los virus de serotipos A, O, y Asia-1 son los más comunes. Los virus del serotipo A son los más variables, teniendo más de 30 subtipos. No existe protección cruzada entre los serotipos de manera que los animales recuperados de la infección con o vacunados en contra de un virus de un serotipo aún son susceptibles a la infección con virus de los restantes seis serotipos. Además, el grado de variación antigenica de un serotipo es tal que una vacuna hecha en contra de un subtipo puede no ser protectora para otro subtipo dentro del mismo serotipo (Brown, *Vaccine*, 1992; 10:1022-1026).

Los péptidos específicos para serotipos que corresponden a la región 141-160 (la ondulación G-H) de las proteínas de capsid VP1 de aislados que pertenecen a todos los siete serotipos FMDV han mostrado producir niveles protectores de anticuerpos neutralizantes de tipo específico en cobayos (Francis *et al.*, *Immunology*, 1990; 69:171-176). Claramente esta región contiene un sitio inmunogénico dominante el cual también lleva la especificidad de serotipo del virus. Las observaciones iniciales de inmunogenicidad para estos péptidos 141-160 VP1 se logró usando péptidos sintéticos conjugados a la proteína portadora KLH (hemocianina de lapa ranurada), un procedimiento que niega la ventaja de fabricar un inmunógeno sintético bien definido. Sin embargo, el desarrollo de los inmunógenos sintéticos VP1 se desarrolló por DiMarchi y Brook (Patente Norteamericana No. 4,732,971) que mostró que las dos secuencias VP1 de un aislado de subtipo O, unido en una construcción química 200-213 Pro-Pro-Ser-141-158-Pro-Cys-Gly (SEC. DE IDENT. NO: 100) protegieron al ganado en contra del reto. No obstante, la eficiencia de este efecto se limitó por la baja inmunogenicidad del inmunógeno peptídico y por su estrecha especificidad de serotipo. La aplicación práctica demanda que una formulación de vacuna proporcione protección de la exposición homotípica y heterotípica, con pequeñas cantidades de inmunógeno peptídico.

El sitio inmunodominante ondulación G-H optimizado para inmunogenicidad y capacidad para inducir anticuerpos ampliamente neutralizante se incorpora como un sitio antigénico objetivo dentro de los inmunógenos peptídicos de la presente invención. El sitio es homólogo a las posiciones de aminoácidos 134-169 sobre la proteína FMDV VP1 de la sepa A12 (Robertson *et al.*, *J Virol*, 1985; 54:651-660) y se extiende más allá del extremo de la ondulación G-H. El sitio objetivo se modificó adicionalmente por: (1) substitución de Asp en la posición 134 y Gln en la posición 157 con

## ES 2 346 116 T3

cisteínas, (2) formación de un enlace disulfuro entre las cisteínas sustituyentes para producir una estructura cíclica, y (3) construcción de una SSAL de la misma usando las secuencias VP1 correspondientes de una selección de subtipos. Los sitios antígenos objetivo optimizados para la FMDV VP1 se ejemplifican por los péptidos en listados en la Tabla 7. Los dos inmunógenos peptídicos, SEC. DE IDENT. NO: 101 y SEC. DE IDENT. NO: 102, son sitios antigenicos objetivos SSAL compilados de sepas de serotipos o FMDV y Asia respectivamente. Los sitios antigenicos objetivos ambos serotipo I y Asia se acoplaron a los epítopes Rh de la presente invención SEC. DE IDENT. NO: 31. Las secuencias de dominio mixtas (SEC. DE IDENT. NO: 78) también se incorporó dentro de la SEC. DE IDENT. NO: 102.

5 Estos inmunógenos peptídicos SSAL se sintetizaron y usaron para hiperinmunizar grupos de tres cobayos (Duncan Hartley (de hembras de 9 semanas edad, 450 gm, libres de virus). Cada animal se inmunió con 100 µg por dosis de la construcción sintética indicada emulsificada en CFA en la semana 9 o IFA en las semanas 3 y 6. Los animales se sangraron en las semanas 0, 5 y 10 para prueba.

10 Las muestras de suero se obtuvieron de sangrías de cinco y 10 semanas y se reunieron de cada grupo. El suero reunido se evaluó por reactividad al epítope que neutraliza VP1 por péptido basado en ELISA usando un péptido que tiene las secuencias para el epítope que neutraliza (VP1 134-169) como el inmuno absorbente de fase sólida. Su capacidad para neutralizar sepas FMDV A1 A12FP, AFL, A23, O-1JH, O-1P2, y Asia-1 también se determinó. La actividad que neutraliza el virus de una dilución 1:100 de una muestra de suero se determinó observando la neutralización sobre una serie de cargas virales de entrada crecientes, usando alícuotas (10,000 MPD50) de las sepas del virus nombradas anteriormente. Los resultados se muestran en la Tabla 7. El método de prueba realizado (Morgan and Moore, Am J Vet Res, 1990; 51:40-45), demostró que la inmunización con los antígenos peptídicos de la presente invención proporcionan suero el cual redujo en 2.5 log<sub>10</sub> microplacas FMDV a una dilución de 1:100. Los resultados también son altamente predictivos de la inmunidad protectora en contra de la infección de FMDV.

15 20 Como se muestra en la Tabla 7, los títulos anti-peptídicos altos en contra de los sitios antigenicos objetivo (>5 Log10) se produjeron en la semana 5. Se observó la neutralización amplia y efectiva de todas las siete sepas probadas que pertenecen a los tres diferentes serotipos de FMDV (es decir, A, O, Asia) a pesar de las amplias variaciones entre las sepas y serotipos.

25 Esto demuestra adicionalmente la eficiencia de los epítopes Th artificiales de la presente invención para estimular respuestas anticuerpo efectivas en contra de un epítope de un patógeno extraño.

### Ejemplo 8

#### 35 Composición peptídica de una vacuna de esporozoito de malaria

40 Se proporcionan inmunógenos peptídicos que comprenden los sitios Ph artificiales idealizados y un antígeno objetivo de circumesporozoito (CS) de *Plasmodium falciparum*, un parásito de la malaria humana. La proteína CS es el antígeno de superficie principal de la etapa de esporozoito del parásito. Los estudios inmunológicos y los datos de secuencias de un gran número de genes CS de plasmodio humano, de simio, y roedor se han documentado mostrando que todas las proteínas CS contienen un región central, que consiste de una serie de repeticiones en tandem, abarcan copias múltiples de un epítope de célula B inmunodominante. En *P. falciparum* el epítope que se repite se representa como

45 (Ans-Ala-Asn-Pro)n

(SEC. DE IDENT. NO:103)

50 55 Los anticuerpos dirigidos en contra de las repeticiones de la proteína CS de los parásitos de malaria humana, *P. falciparum* y *P. vivax*, inhiben la invasión de hepatocitos por esporozoitos y anula su inefectividad. Por lo tanto, las repeticiones del epítope CS han sido el antígeno objetivo de las vacunas subunitarias usadas en diversas pruebas de vacuna de malaria humana (Nussenzweig *et al.*, *Adv. Immunol.*, 1989, 45:283; Hoffman *et al.*, *Science*, 1991, 252:520). Sin embargo, una de las desventajas de las diversas vacunas de malarias sintéticas corrientemente en las pruebas clínicas es su baja inmunogenicidad. Así, una vacuna de malaria potencial permanece a ser desarrollada. (Calvo-Calle *et al.*, *J Immunol.*, 1994, 150:1403)

60 Para superar el problema de inmunogenicidad asociado con las repeticiones de la proteína CS de *P. falciparum*, los epítopes Th artificiales mostrados en la Tabla 1 se incorporan dentro de los inmunógenos peptídicos CS. por ejemplo, la construcción peptídica

(SEC. DE IDENT. NOS: 15, 18)-εNLys-(Asn-Ala-Asn-Pro)4

(SEC. DE IDENT. NOS:104, 105)

65 se sintetiza y usa como el inmunógeno clave en una vacuna de malaria para producir anticuerpos protectores potentes en animales pequeños, primates (por ejemplo, Babuinos) y humanos en contra de *P. falciparum* sporozoites.

# ES 2 346 116 T3

## Ejemplo 9

### *Composición peptídica para la prevención y tratamiento de ateroesclerosis y enfermedad cardiovascular*

5 La proteína de transporte colesterol éster (CETP) media la transferencia de colesterol ésteres de HDL a lipoproteínas ricas en TG tales como VLDL y LDL, y también el intercambio de recíproco de TG de VLDL y LDL (Tall, *J Internal Med*, 1995, 237:5-12; Tall, *J Lipid Res*, 1993, 34:1255; Hesler *et al.*, *J Biol Chem*, 1987, 262:2275; Quig *et al.*, *Ann Rev Nutr*, 1990, 10:169). La CETP puede jugar un papel en la modulación de los niveles de colesterol ésteres y triglicéridos asociados con diversas clases de lipoproteínas. Se ha correlacionado una alta actividad de transferencia de colesterol éster CETP con niveles crecientes de colesterol asociado a LDL y colesterol asociado a VDLD, lo cual a su vez se correlaciona con el riesgo creciente de enfermedad cardiovascular (ver, por ejemplo Tato *et al.*, *Arterioscler Thromb Vascular Biol*, 1995, 15:112).

10 15 La CETP aislada de plasma humano es una glicoproteína hidrofóbica que tiene 476 aminoácidos. Una CETP humana que codifica ADNc se ha clonado y secuenciado (Drayna *et al.*, *Nature*, 1987, 237:632). Un anticuerpo monoclonal TP2 (anteriormente designado 5C7) el cual, inhibe completamente la actividad de transferencia del triglicérido y colesterol éster de CETP y a un grado menor, la actividad de transferencia de fosfolípidos (Hesler *et al.*, *J Biol Chem*, 1998, 263:5020). El epítope de TP2 se localizó en el carboxilo terminal de 26 aminoácidos, es decir, los aminoácidos de Arg451 a Ser476 de CETP humana (ver, Hesler *et al.*, 1988):

20  
Arg Asp Gly Phe Leu Leu Leu Gln Met Asp  
Phe Gly Phe Pro Glu His Leu Leu Val Asp  
25 Phe Leu Gln Ser Leu Ser (SEC. DE IDENT. NO:106)

30 se reportó que la TP2 inhibe la actividad de CETP humana y de conejo *in vitro* y CETP de conejo *in vivo* (Yen *et al.*, *J Clin Invest*, 1989, 83:2018). El análisis adicional de la región de CETP unida por Tp2 reveló que los aminoácidos entre Phe463 y Leu475

35  
Phe Gly Phe Pro Glu His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu  
Ser (SEC. DE IDENT. NO:107)

40 son necesarios para el enlace de TP2 y para neutralizar la actividad de transferencia y enlace de lípidos neutros de CETP (ver, Wang *et al.*, *J Biol Chem*, 1992, 270:612).

45 Un numero de estudio *in vivo* que utilizan modelos animales o humanos han indicado que la actividad de CETP puede afectar el nivel de colesterol circulante que contiene HDL. La creciente actividad de transferencia de colesterol éster CETP puede producir una disminución en los niveles de HDL-C relativo a los niveles de LDLC y/o VLDLC y bajo HDL lo cual a su vez se correlaciona con una creciente susceptibilidad a la arteriosclerosis. Por lo tanto, el descubrimiento de compuestos y métodos para controlar la actividad de CETP serán ventajosos para prevenir o tratar la enfermedad cardiovascular.

50 55 60 Rittershaus *et al.*, WO 96/34888, propone el uso de una composición peptídica que comprende un epítope de célula T asistente inmunogénico “universal” o “de amplio rango” enlazado, preferente y covalentemente a una porción epítope de célula B tal como la encontrada en la porción carboxilo terminal de la CETP humana involucrada en un enlace de lípidos neutros o actividad de transferencia de CETP. Para mejorar la inmunogenicidad del sitio funcional de la CETP humana, es decir, se sintetizaron los aminoácidos carboxilo terminal de CETP humana (SEC. DE IDENT. NOS: 96 y 97) y análogos peptídicos de los mismos enlazados a los péptidos antigenicos que comprenden epítopes Th artificiales de la Tabla 1 y péptidos antígeno objetivo CETP. Estos antígenos peptídicos, mostrados en la Tabla 8, se usan para producir anticuerpos para CETP en animales pequeños, primates y humanos. Los anticuerpos anti CETOP controlan CETP. Por lo tanto, se espera que los péptidos antigenicos CETP causen acumulación reducida en plasma de colesterol asociado a LDL proporcione protección y tratamiento de arteriosclerosis y enfermedad coronaria del corazón.

# ES 2 346 116 T3

## Ejemplo 10

*Composición peptídica como componente de la vacuna VIH para la producción de anticuerpos de neutralización en contra de VIH*

5 El progreso en el desarrollo de una vacuna efectiva para VIH-1 se ha evaluado en gran parte al medir la capacidad para inducir anticuerpos de neutralización y linfocitos T citotóxicos CD8+ específicos para virus (CTLs). Los indicadores líderes de una respuesta inmune protectora. Se observó una fuerte correlación entre la protección en contra de la infección y los niveles Abs de neutralización en primates no humanos infectados con VIH-1 y VIH de simio (SHIV). Sin embargo, se ha hecho progreso para generar anticuerpos de neutralización durante las décadas pasadas.

10 Parte del problema es la débil respuesta anticuerpo de neutralización generada por las vacunas VIH-1 candidatas. Un artículo reciente intitulado "Toward an VIH Type 1 vaccine that generates potent, broadly cross-reactive neutralizing antibodies" por Montefiori *et al* (*AIDS Res and Hum Retrovir*, 1999, 15:689-698) proporciona una revisión del estado de la técnica de las dificultades encontradas en el desarrollo de la vacuna VIH.

15 En un esfuerzo para mejorar la respuesta anticuerpo de neutralización en contra de VIH, nos embarcamos en diseños de antígeno sintético dirigido para producir anticuerpos de neutralización potentes. Los antígenos sintéticos emplean epítopes Th artificiales especialmente diseñados como el elemento inmuno estimulador de la construcción unida covalentemente a los epítopes de células B que neutralizan VIH (por ejemplo, Korber *et al*, *VIH Mol Immunol Database 1997, Part III Antibody Binding Sites*) o mimétopes de neutralización (por ejemplo, Scala *et al*, *J Immunol* 1999, 162: 6155-6161) reconocidos previamente por anticuerpos monoclonales o policlonales.

20 Entre los epítopes de células B que neutralizan VIH, se diseñó una secuencia de consenso V3 artificial (SEC. DE IDENT. N°: 125) que comprende una estructura óptima del determinante de neutralización principal V3 de VIH gp120 (Wang, C.Y., US 5,763,160). Estos incluyen los aminoácidos más frecuentes para una cada de las posiciones de aminoácidos dentro de la estructura basada en el análisis de la secuencias de aminoácidos de alrededor de 1,000 aislados de VIH de los subtipos A a G, junto con la secuencia derivada de epítopes lineales o conformacionales de las regiones VIH gp120/gp41 mostradas aquí en las Tablas 9 y 10 en SEC. DE IDENT. NOS: 125, 126-129, 148-153. Los mimétopes de neutralización de Scala *et al* (SEC. DE IDENT. NOS: 130-135) también se sintetizan como péptidos de la invención, SEC. DE IDENT. NOS: 136-147, como se muestra en la Tabla 9.

25 Las construcciones peptídicas inmunogénicas de la invención mostradas en la Tabla 10 son completamente sintéticas y se sintetizaron por el método de fase sólida delineado en el ejemplo 1. Estas construcciones peptídicas inmunogénicas ilustran adicionalmente la utilidad del Ph artificial de la presente invención en el desarrollo de vacunas de VIH.

30 Cada péptido en la Tabla 10 puede representarse por la fórmula (A)n-(Th)m -(B)o-(epítope de neutralización B VIH)-X o (epítope de neutralización VIH)-(B)o-(Th)m-(A)n-X. Los epítopes que neutralizan VIH incluyen SEC. DE IDENT. NOS: 125 y 130-135. Los péptidos inmunogénicos comprenden uno o más de los sitios Th derivados de Th artificial (como se muestra en la Tabla 1). Cada péptido de este ejemplo tiene espaciadores Gly-Gly o (ε-N)Lys entre los elementos inmunogénicos, pero los péptidos de la invención pueden tener otros espaciadores o ningún espaciador.

35 Los péptidos de estos ejemplos pueden comprender un sitio inmunoestimulador Inv opcional (SEC. DE IDENT. NO: 27). Se entiende sin embargo que la invención no se limita al uso de Inv como un elemento inmunoestimulador adicional.

40 Las construcciones peptídicas representativas de la invención como se enlistan en la Tabla 10 (SEC. DE IDENT. NOS: 148-153) se sintetizaron, desdoblaron, ciclizaron y purificaron como se describió en el ejemplo 1. Cada construcción peptídica se formuló para inmunización dentro de animales pequeños tales como cobayos, o dentro de animales más grandes tales como cerdos o Babuino para la evaluación de su inmunogenicidad, cada uno de los péptidos se suspendió en un volumen de 0.5 mL que contiene emulsificadores representativos y adyuvantes tales como ISA51, ISA720, DDA o monofosforil lípido A (MPL). La dosis fue 100 µg de péptido para cobayos o 300 µg de péptido para cerdos o Babuinos y los animales se inmunizaron intramuscularmente.

45 55 Los animales recibieron inyecciones en la semana 0, 3 y 6 como se especifica en la Tabla 10. Las sangrías de prueba a las 5, 8, 10 y 11 semanas después de la inmunización inicial se evaluaron para las reactividades con epítopes objetivo por el ELISA peptídica de epítope de célula B como se describió en el ejemplo 1, y se probó adicionalmente por su capacidad para neutralizar VIH-1 como se describió en detalle en el ejemplo 5.

60 65 Todos los péptidos probados produjeron reactividades cruzadas dirigidas al sitio fuerte al péptido objetivo correspondiente, como se muestra por los títulos Log10 en las ELISAs peptídicas de epítope anti B mayores de 4. la neutralización de VIH-1 también se observó para el suero inmune obtenido de cobayos y Babuinos. Esta reactividad funcional por el suero de Babuino es digna de mención puesto que la neutralización del VIH humano por el suero de Babuino es casi un sistema humano. Los resultados son fuertes indicadores de la eficiencia de una construcción peptídica de la invención como un agente para la prevención y/o inmunoterapia de la infección VIH por inmunización activa.

## ES 2 346 116 T3

TABLA 1

Modelo, Prototipo, y Epítopes Th Artificiales Idealizados

5 a. Epítopes Th y Th MVF derivados de los mismos

	Identificador Th	Secuencia de Aminoácido
10	MVF Th	LSEIKGVIVHRLEGV
15	SSAL1 Th1	DLSDL <u>K</u> <u>G</u> <u>LL</u> H <u>K</u> <u>L</u> DGL
		EI EIR <u>I</u> <u>I</u> RIE I
		V V <u>V</u> <u>V</u> V V
		F F <u>F</u> <u>F</u> F F
20	SEC. DE IDENT. NO:6	ISEIKGVIVHKIEGI
25	SEC. DE IDENT. NO:7 *	MT RT TRM TM
	SEC. DE IDENT. NO:8 *	L L V
30	SEC. DE IDENT. NO:6 *	ISEIKGVIVHKIEGI
	SEC. DE IDENT. NO:9 *	T RT TR T
35	SEC. DE IDENT. NO:10 *	MSEIKGVIVHKLEGM
	SEC. DE IDENT. NO:11 *	LT MRT TRM TV
40	SEC. DE IDENT. NO:6	ISEIKGVIVHKIEGI
	SEC. DE IDENT. NO:12 *	ITEIRTVIVTRIETI
45	SEC. DE IDENT. NO:13 *	MSEMKGVIVHKMEGM
	SEC. DE IDENT. NO:14 *	LTEIRTVIVTRLETV
50	SEC. DE IDENT. NO:15	ISISEIKGVIVHKIEGILF
	SEC. DE IDENT. NO:16 *	MT RT TRM TM
	SEC. DE IDENT. NO:17 *	L L V
55	SEC. DE IDENT. NO:15	ISISEIKGVIVHKIEGILF
	SEC. DE IDENT. NO:18 *	T RT TR T
60	SEC. DE IDENT. NO:19 *	ISLSEIKGVIVHKLEGMLF
	SEC. DE IDENT. NO:105 *	MT MRT TRM TV
	SEC. DE IDENT. NO:123 *	ISLTEIRTVIVTRLETVLF
	SEC. DE IDENT. NO:124 *	I I I
	SEC. DE IDENT. NO:15	ISISEIKGVIVHKIEGILF
	SEC. DE IDENT. NO:20 *	ISITEIRTVIVTRIETILF
	SEC. DE IDENT. NO:21 *	ISMSEMKGVIVHKMEGMLF
	SEC. DE IDENT. NO:22 *	ISLTEIRTVIVTRLETVLF

\* solamente por comparación

ES 2 346 116 T3

b. HBsAg Th, Prototipo y derivados \*

Identificador Th		Secuencia de Aminoácido
HbsAg.Th	SEC. DE IDENT. NO:23	FFLLTRILTIPQSLD
	SEC. DE IDENT. NO:24	KKKFFLLTRILTIPQSLD
	SEC. DE IDENT. NO:25	FFLLTRILTIPQSL
SSAL2 Th2	SEC. DE IDENT. NO:26	KK <u>K</u> <u>L</u> <u>F</u> <u>L</u> <u>L</u> <u>T</u> <u>K</u> <u>L</u> <u>L</u> <u>T</u> <u>P</u> QSLD
	SEC. DE IDENT. NO:27	R <u>R</u> <u>R</u> <u>I</u> <u>K</u> <u>I</u> <u>I</u> <u>R</u> <u>I</u> <u>I</u> <u>I</u> <u>L</u> <u>I</u> <u>R</u>
	SEC. DE IDENT. NO:28	V <u>R</u> <u>V</u> <u>V</u> <u>V</u> <u>V</u> <u>I</u> <u>V</u>
	SEC. DE IDENT. NO:29	F <u>F</u> <u>F</u> <u>F</u> <u>F</u> F V F
	SEC. DE IDENT. NO:30	F
SEC. DE IDENT. NO:31		KKKIIITITRIITIITTID
SEC. DE IDENT. NO:32		KKKIIITITRIITIITTI
SEC. DE IDENT. NO:33		KKKKMMTMTRMITMITTID
SEC. DE IDENT. NO:34		FITMDTKFLLASTHIL
SEC. DE IDENT. NO:35		KKKFITMDTKFLLASTHIL

\* solamente por comparación

TABLA 2

*Inmunogenicidad de Péptidos LHRH*

a. Derivativo MVF Th

SEC. DE IDENT. NO:	Descripción de Péptido Antigénico	Formulaciones			
		sin castrar		sin castrar	
36	(SEC. DE IDENT. NO:1)-GG-(LHRH)a	400 µg/dosis IFA (0,3,6wpi)	8/10	400 µg/dosis Alum (0,3,6wpi)	5/5
37	(SEC. DE IDENT. NO:2)-GG-(LHRH)a				
38	(SEC. DE IDENT. NO:3)-GG-(LHRH)a		400 µg/dosis	9/10	400 µg/dosis 2/5

60

65

## ES 2 346 116 T3

TABLA 2 (continuación)

5	39	(SEC. DE IDENT. NO:4)-GG-(LHRH)a	IFA (0,3,6wpi)		Alum (0,3,6wpi)	
10	40	(SEC. DE IDENT. NO:5)-GG-(LHRH)a				
15	41	(SEC. DE IDENT. NO:6)-GG-(LHRH)a				
20	42 *	(SEC. DE IDENT. NO:7)-GG-(LHRH)a	400 µg/dosis IFA (0,3,6wpi)	6/6	25 µg/dosis Alum (0,3,6wpi)	3/8
25	43 *	(SEC. DE IDENT. NO:8)-GG-(LHRH)a				
30	41	(SEC. DE IDENT. NO:6)-GG-(LHRH)a	N.D.		25 µg/dosis	1/6
35	44 *	(SEC. DE IDENT. NO:9)-GG-(LHRH)a			Alum (0,3,6wpi)	
40	45	(Inv)b-GG-(SEC. DE IDENT. NO:6)-GG-(LHRH)a	N.D.		25 µg/dosis	5/5
45	46 *	(Inv)b-GG-(SEC. DE IDENT. NO:9)-GG-(LHRH)a	.		Alum (0,3 wpi)	
50	47 *	(SEC. DE IDENT. NO:10)-GG-(LHRH)a	100 µg/dosis	4/6	25 µg/dosis	1/8
55	48 *	(SEC. DE IDENT. NO:11)-GG-(LHRH)a	IFA (0,3,6wpi)		Alum (0,3 wpi)	
60	45	(Inv)b -GG-(SEC. DE IDENT. NO:6)-GG-(LHRH)a	N.D.		25 µg/dosis Alum (0,3 wpi)	2/6
	49 *	(SEC. DE IDENT. NO:12)-GG-(LHRH)a	N.D.		25 µg/dosis Alum (0,3 wpi)	5/6
	50 *	(SEC. DE IDENT. NO:13)-GG-(LHRH)a	N.D.		25 µg/dosis Alum (0,3 wpi)	0/6

## ES 2 346 116 T3

TABLA 2 (continuación)

5	51 *	(SEC. DE IDENT. NO:14)-GG-(LHRH)a	N.D.	25 µg/dosis Alum (0,3 wpi)	5/6
10	52 *	(Inv)b -GG-(SEC. DE IDENT. NO:14)-GG-(LHRH)a	N.D.	25 µg/dosis Alum (0,3 wpi)	3/6
15	53	(SEC. DE IDENT. NO:15)-GG-(LHRH)a			
20	54 *	(SEC. DE IDENT. NO:16)-GG-(LHRH)a	N.D.	25 µg/dosis Alum (0,3 wpi)	4/8
25	55 *	(SEC. DE IDENT. NO:17)-GG-(LHRH)a			
30	53	(SEC. DE IDENT. NO:15)-GG-(LHRH)a	N.D.	25 µg/dosis	6/6
35	56 *	(SEC. DE IDENT. NO:18)-GG-(LHRH)a		Alum (0,3 wpi)	
40	57	(Inv)b -GG-(SEC. DE IDENT. NO:15)-GG-(LHRH)a	N.D.	25 µg/dosis	6/6
	58 *	(Inv) b -GG-(SEC. DE IDENT. NO:18)-GG-(LHRH)a		Alum (0,3 wpi)	
	59 *	(SEC. DE IDENT. NO:19)-GG-(LHRH)a	100 µg/dosis	6/6	25 µg/dosis
					14/1

\* solamente por comparación

45

50

55

60

65

## ES 2 346 116 T3

TABLA 2 (continuación)

5	106	(SEC. DE IDENT. NO:105)-GG-(LHRH)a	IFA (0,3,6wpi)		Alum (0,3 wpi)	
10	53	(SEC. DE IDENT. NO:15)-GG-(LHRH)a	N.D.		25 µg/dosis Alum (0,3 wpi)	1/6
15	60	(Inv) b -(SEC. DE IDENT. NO:15)-GG-(LHRH)a	N.D.		25 µg/dosis Alum (0,3 wpi)	4/6
20	61 *	(SEC. DE IDENT. NO:20)-GG-(LHRH)a	N.D.		25 µg/dosis Alum (0,3 wpi)	4/6
25	62 *	(Inv) b -GG-(SEC. DE IDENT. NO:20)-GG-(LHRH)a	N.D.		25 µg/dosis Alum (0,3 wpi)	2/6
30	63 *	(Inv)-(SEC. DE IDENT. NO:21)-GG-(LHRH)a	N.D.		25 µg/dosis Alum (0,3 wpi)	1/6
35	64 *	(SEC. DE IDENT. NO:22)-GG-(LHRH)a	N.D.		25 µg/dosis Alum (0,3 wpi)	4/6

\* solamente por comparación

## b. HBsAg Th Derivativo \*

SEC. DE IDENT . NO:	Descripción del Péptido Antigénico	Formulaciones			
		no castrado	no. castrado		
40	65 (SEC. DE IDENT. NO:23)-GG-(LHRH)a	400 µg/dosis IFA (0,3,6wpi)	10/10	400 µg/dosis Alum (0,3,6 wpi)	0/5
45	66 (SEC. DE IDENT. NO:26)-GG-(LHRH)a				
50	67 (SEC. DE IDENT. NO:27)-GG-(LHRH)a				
55	68 (SEC. DE IDENT. NO:28)-GG-(LHRH)a	400 µg/dosis IFA (0,3,6wpi)	9/10	400 µg/dosis Alum (0,3,6 wpi)	2/5
60	69 (SEC. DE IDENT. NO:29)-GG-(LHRH)a				
65	70 (SEC. DE IDENT. NO:30)-GG-(LHRH)a				

# ES 2 346 116 T3

TABLA 2 (continuación)

5	71 (SEC. DE IDENT. NO:31)-GG-(LHRH)a	N.D.		25 µg/dosis Alum (0,3 wpi)	8/8
10	72 (SEC. DE IDENT. NO:32)-GG-(LHRH)a	N.D.		25 µg/dosis Alum (0,3 wpi)	4/6
15	73 (SEC. DE IDENT. NO:33)-GG-(LHRH)a	100 µg/dosis IFA (0,3,6wpi)	4/6	25 µg/dosis Alum (0,3 wpi)	0/6
20	74 (SEC. DE IDENT. NO:34)-GG-(LHRH)a	100 µg/dosis IFA (0,3,6wpi)	6/6	25 µg/dosis Alum (0,3 wpi)	5/8
25	75 (Inv) b -GG-(SEC. DE IDENT. NO:34)-GG-(LHRH)a	N.D.		25 µg/dosis Alum (0,3 wpi)	4/6
30	76 (SEC. DE IDENT. NO:35)-GG-(LHRH)a	N.D.		25 µg/dosis Alum (0,3 wpi)	0/8
35	KLHc-(LHRH)a	N.D.		50 µg/dosis Alum (0,3 wpi)	2/8

LHRH = EHWSYGLRPG (SEC. DE IDENT. NO:77)

b INV = Dominio Invasina (SEC. DE IDENT. NO:78)

c KLH = Hemocianina de lapa ranurada

d Espaciador de bisagra = PPXPXP (SEC. DE IDENT. NO:79)

\* solamente por comparación

TABLA 3

*Evaluación de Especificidad de Anticuerpo para el Sitio Antigénico Objetivo*

SEC. DE IDENT. NO:	Reactividad a LHRH	Reactividad b Th
53 y 56 *	6/6	0/6c
71 *	8/8	0/8d
74 *	4/8	0/8e

a Número de animales con títulos anti-LHRH

> 1:1000/total de animales inmunizados. El péptido ELISA fue SEC. DE IDENT. NO:77.

b Número de animales con reactividad anti-Th

# ES 2 346 116 T3

> 0.100 A490 /total de animales inmunizados. Los sueros se diluyeron 1:100 y  
 todos los valores A490 estuvieron en valores base para los péptidos Th  
 respectivos.

c El péptido ELISA fue un mezcla de dos péptidos de: SEC. DE IDENT.

NOS:15 y 18.

d El Péptido ELISA fue SEC. DE IDENT. NO:31.

e El péptido ELISA fue SEC. DE IDENT. NO:34.

\* solamente por comparación

TABLA 4

*Evaluación de Composiciones Peptídicas Th/LHRH Artificiales que Incluyen Mezcla*

Inmunogeno	0 wpi	5 wpi	8 wpi	10 wpi	14 wpi	18 wpi	22 wpi
SEC. DE IDENT. NO:64* + Alum	0/8b	3/8	8/8	8/8	7/8	5/8	3/8
SEC. DE IDENT. NOS:57 y 58* + Alum	0/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6
SEC. DE IDENT. NO:64* + SEC. DE IDENT. NOS:57 y 58* + Alum	0/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6

a Composiciones peptídicas LHRH individuales o la composición peptídica LHRH mezclada se formularon en alumbre.

Plan de inmunización: 25 $\mu$ g/dosis a 0 y 3 wpi.

b Número de animales inmunocastrados/número total de animales en el grupo. Los animales se contaron como inmunocastrados cuando los valores de testosterona en suero fueron de <0.1 nmol/L a no detectables.

\* solamente por comparación

## ES 2 346 116 T3

TABLA 5  
*Inmunogenicidad de Péptidos Antigénicos de Somatostatina*

SEC. DE IDENT. NO:	Descripción del Péptido Antigénico	Adjuvante	Inmunogenicidad		
			WPIb	Que Responde n=4	Título Log10 ELISA
80	Somatostatinaa	0.4% Alum (0,2,4 WPI)	6 8	0 0	- -
81,82*,83 *	(SEC. DE IDENT. NOS:6,7,8)-GG- (Somatostatina)	0.4% Alum (0,3,6 WPI)	5 8	1/4 4/4	2.38 3.33
84,85*,86 *	(Somatostatina)- GG-(SEC. DE IDENT. NOS:6,7,8)	0.4% Alum (0,3,6 WPI)	5 8	3/4 4/4	3.24 3.12
87*	(SEC. DE IDENT. NO:31)-GG- Somatostatina	0.4% Alum (0,3,6 WPI)	8	4/4	3.12

a Secuencia de somatostatina: AGCKNFFWKTFTSC

(SEC. DE IDENT. NO:80)

b WPI = Semanas después de la

inmunización.

c Resultados de prueba para los sueros reunidos de los

animales reactivos a ELISA.

\* solamente por comparación

55

60

65

## ES 2 346 116 T3

TABLA 6  
*Inmunogenicidad de Péptidos Antigénicos IgE-CH3*

SEC. DE IDENT. NO:	Descripción del Péptido Antigénico	Inmunogenicidad	
		No. que responden	Log10 ELISAb
93,94*	(SEC. DE IDENT. NOS:15,18)-GG-(SEC. DE IDENT. NO:92)a	3/3	3.30
95,96*,97*	(SEC. DE IDENT. NOS:6,7,8)-GG-(SEC. DE IDENT. NO:92)a	3/3	3.32
98*	(SEC. DE IDENT. NO:31)-GG-(SEC. DE IDENT. NO:92)a	3/3	2.35
99*	Invc-GG-(SEC. DE IDENT. NO:31)-GG-(SEC. DE IDENT. NO:92)a	3/3	3.28
	KLHd-(SEC. DE IDENT. NO:92)a	2/2	0.49

a Sitio IgE-CH3 modificado (SEC. DE IDENT. NO:92)

b Promedio de animales del grupo

c Péptido de dominio invasina (SEC. DE IDENT. NO:78)

d Hemocianina de Lapa Ranurada

\* solamente por comparación

ES 2 346 116 T3

TABLA 7 \*

*Péptidos Antigénicos Th y SSAL Artificiales para Mejorada Inmunogenicidad y Amplitud de Neutralización FMDV*

SEC. DE IDENT. NO:	Péptido Antigénico Objetiv	W PI	No. de Animales que Responden (n=3)	Título de Elisa Anti- FMDV- VP1d LOg10	Log10 de FMDV (MPD50) Neutralizado por suero d,e						
					A12 FP	O-1 (JH)	A- FL	O-1 P2	A-23	Asia 1	A 1
101	(SEC. DE IDENT. NO:31)- GG - OSSAL	5	3	5.158	3.0	4.5	2.0				
		10	3						2.5	4.5	6.0
102	Inv-GG- (SEC. DE IDENT.	5	3	5.256	3.0	4.5	2.0		1.0	3.0	
		10	3								

a T158 de secuencia nativa se reemplazó por C.

b T134 de secuencia nativa se reemplazó por C.

c R158 de secuencia nativa se reemplazó por C.

d Reactividades de los sueros reunidos de animales reactivos a

ELISA.

e Sueron para pruebas de neutralización diluido 1:100.

\* solamente por comparación

50

55

60

65

## ES 2 346 116 T3

TABLA 8  
*Péptidos antigenicos CETP*

SEC. IDENT. NO	DESCRIPCION DEL PEPTIDO ANTIGENICO
110,111*	(SEC. DE IDENT. NOS:15,18)-εNLys-(SEC. DE IDENT. NO:106)
112,113*	(SEC. DE IDENT. NOS:15,18)-εNLys-(SEC. DE IDENT. NO:107)
114*	(SEC. DE IDENT. NO:31)-εNLys-(SEC. DE IDENT. NO:107)
115*	(SEC. DE IDENT. NO:22)-εNLys-(SEC. DE IDENT. NO:107)
116,117*	(SEC. DE IDENT. NO:15,18)-εNLys-(SEC. DE IDENT. NO:108)a
118,119*	(SEC. DE IDENT. NO:15,18)-εNLys-(SEC. DE IDENT. NO:109)b

Nota: a = Phe Gly Phe Pro Lys His Leu Leu Val Asp Phe

Leu Gln Ser Leu Ser

(SEC. DE IDENT. NO:108)

b = Leu Asp Gly Cys Leu Leu Gln Met Asp Phe

Gly Phe Pro Lys His Leu Leu Val Asp Phe Leu

Gln Ser Leu Ser

(SEC. DE IDENT. NO:109)

\* solamente por comparación

5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65

**Tabla 9**

Secuencia de Amino ácido de Epítopes que Neutralizan VIH (SEC. DE IDENT. NO)	Descripción de Epítopes Th	Código Peptídi co	Secuencias de Amino ácidos de Construcciones Peptídicas Representativas
ESVEINCTRPNNNTRKSIRIGPGQAFYATGD	Simplificado MVF Th lib (SEC. DE IDENT. NO:15,18*)	p2846b	ISISEIKGVIVHKIEGLF-(εN)K- ESVEINCTRPNNNTRKSIRIGPGQAFYATGD T RT TR T (SEC. DE IDENT. NO:126,127)
(SEC. DE IDENT. NO:125)	Simplificado [I,L] MVF Th (SEC. DE IDENT. NO:110,111*)	p2868b	ISLTEIERTVIVTRLETVLF--(εN)K- ESVEINCTRPNNNTRKSIRIGPGQAFYATGD I I I (SEC. DE IDENT. NO:128,129)
KSSGKLISL	Simplificado MVF Th (SEC. DE IDENT. NO:130)	p2942	KSSGKLISL-(εN)K-ISISEIKGVIVHKIEGLF T RT TR T (SEC. DE IDENT. NO:136,137)

ES 2 346 116 T3

CNGRLYCGP (SEC. DE IDENT. NO:131)	Simplificado MVF Th	p2937 (SEC. DE IDENT. NO:15,18*)	CNGLYCGP-(εN)K-ISIEIKGVIVHKIEGLF T RT TR T (SEC. DE IDENT. NO:139)
(C)GTKLVCFAA (SEC. DE IDENT. NO:132)	Simplificado MVF Th	p2939 (SEC. DE IDENT. NO:15,18*)	(C)GTKLVCFAA-(εN)K-ISIEIKGVIVHKIEGLF T RT TR T (SEC. DE IDENT. NO:140,141)
KRIVIGPQT (SEC. DE IDENT. NO:133)	Simplificado MVF Th	p2944 (SEC. DE IDENT. NO:15,18*)	KRIVIGPQT-(εN)K-ISIEIKGVIVHKIEGLF T RT TR T (SEC. DE IDENT. NO:142,143)
CAGGLTCSV (SEC. DE IDENT. NO:134)	Simplificado MVF Th	p2940 (SEC. DE IDENT. NO:15,18*)	CAGGLTCSV-(εN)K-ISIEIKGVIVHKIEGLF T RT TR T (SEC. DE IDENT. NO:144,145)

5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65

(C)SGRLYCHESW (SEC. DE IDENT. NO:135)	Simplificado MVF Th	p2941	(C)SGRLYCHESW-(εN)K-ISISEIKGVIVHKIEGLF (SEC. DE IDENT. NO:146,147)
--	------------------------	-------	---

\* solamente por comparación

Tabla 10

**Immunogenicidad de Péptidos Representativos de las Invención**

Especie	Grupo #	Adjuvante y plan de Inmunización	Código Peptídico	Descripción de las Construcciones peptídicas representativas	WPI ELISA sobre el Antígeno Objetivo	Título del Suero por Prueba de Neutralización (VIIH-1 MN/H9)	
						50% Inhibición .	90% Inhibición . n
	1	Emulsión aceite en	p2846 b (Sec. de	IS(1,4,9 Palindromic Th Simplificado lib)LF-GG-“V3” All Concensus	5	4.461	3972 425
					8	4.383	10276 535

ES 2 346 116 T3

Especie	Grupo #	Adjuvante y plan de Inmunización	Código Peptídico	Descripción de las Construcciones peptídicas representativas	WPI	Título del Suero por Prueba de Neutralización (VIIH-1 MN/H9)	
						Log10 sobre el Antígeno Objetivo	50% Inhibición . n
Cobayo	0	agua (0, 3, 6 WPI)	Ident. Nos. 148, 149)	Emulsión aceite en agua (0, 3, 6 WPI)	p2868 lib[1, L] - (εN)K -"V3" Concenso completo	10	4.245 4245
						10	4.489 1198 206
Babui no	1	agua (0, 3, 6 WPI)	Ident. Nos. 150, 151)	Emulsión aceite en agua (0, 3, 6 WPI)	p2868 lib[1, L] - (εN)K -"V3" Concenso completo	8	4.291 3295 1092
						10	4.239 4233 1147
						11	sobre 23745 2811
						8	4.375 948 152

# ES 2 346 116 T3

## REIVINDICACIONES

1. Un epítope de célula asistente T seleccionado del grupo **caracterizado** porque consiste de SEC. DE IDENT. NO: 6 o 15.

2. Un inmunógeno peptídico representado por las fórmulas

10 (A)n-(sitio antigénico objetivo)-(B)o-(Th)m-X

o

15 (A)n-(Th)m-(B)o-(sitio antigénico objetivo)-X

o

20 (A)n--(B)o(Th)m-(B)o-(sitio antigénico objetivo)-X

o

(sitio antigénico objetivo)-(B)o-(Th)m-(A)n-X

25 (A)n--(B)o(Th)m-(B)o-(sitio antigénico objetivo)-(A)n-X

30 en donde:

A es un aminoácido o una secuencia inmunoestimuladora general, en donde n es más de uno, las A's individuales pueden ser las mismas o diferentes;

35 B se selecciona del grupo que consiste de aminoácidos, -HCH(X)CH<sub>2</sub>SCH<sub>2</sub>CO-, -NHCH(X)CH<sub>2</sub>SCH<sub>2</sub>CO( $\epsilon$ -N) Lys-, -NHCH(X)CH<sub>2</sub>S-succinimidil( $\epsilon$ -N)Lys-, y -NHCH(X)CH<sub>2</sub>S-(succinimidil)-;

40 Th es un epítope de célula T asistente artificial seleccionado del grupo que consiste de SEC. DE IDENT. NO: 6 o 15;

45 “Sitio antigénico objetivo” es un epítope de célula B, un hapteno peptídico, o un análogo inmunológicamente reactivo de los mismos;

X es un aminoácido  $\alpha$ -COOH o -CONH<sub>2</sub>;

n es de 1 hasta aproximadamente 10;

50 m es de 1 hasta aproximadamente 4; y

o es de 0 hasta aproximadamente 10.

55 3. El inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 2, **caracterizado** porque la secuencia inmunoestimuladora es SEC. DE IDENT. NO: 78.

60 4. El inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 2, **caracterizado** porque B se selecciona del grupo que consiste de Gly-Gly, ( $\epsilon$ -N)Lys-, Pro-Pro-Xaa-Pro-Xaa-Pro, -NHCH(X)CH<sub>2</sub>SCH<sub>2</sub>CO-, -NHCH(X)CH<sub>2</sub>SCH<sub>2</sub>CO( $\epsilon$ -N)Lys-, -NHCH(X)CH<sub>2</sub>S-succinimidil( $\epsilon$ -N)Lys-, y -NHCH(X)CH<sub>2</sub>S-(succinimidil)-.

5. El inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 4, **caracterizado** porque B es Gly-Gly.

6. El inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 4, **caracterizado** porque B es ( $\epsilon$ -N)Lys.

# ES 2 346 116 T3

7. El inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 2, 3, 4, 5 ó 6, **caracterizado** porque el sitio antígeno objetivo es el antígeno de repetición de

5 (Asn-Ala-Asn-Pro)p

(SEC. DE IDENT. NO:103),

10 en donde p=4.

8. El inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 7, **caracterizado** porque se seleccionado del grupo que consiste de SEC. DE IDENT. NOS: 104 y 152.

15 9. El inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 2, 3, 4, 5, ó 6, **caracterizado** porque el sitio Antígeno Objetivo se selecciona del grupo que consiste de SEC. DE IDENT. NOS: 106, 107, 108 y 109, un epítope de CETP.

20 10. El inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 10, seleccionado del grupo que consiste de SEC. DE IDENT. NOS: 110, 112, 116 y 118.

25 11. El inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 2, 3, 4, 5, ó 6, **caracterizado** porque el sitio Antígeno Objetivo se selecciona del grupo que consiste de SEC. DE IDENT. NOS: 125, 131, 132, 133, 134 y 135 un epítope de VIH.

12. El inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 11, **caracterizado** porque se selecciona del grupo que consiste de SEC. DE IDENT. NOS: 126, 136, 138, 140, 142, 144, 146 y 148.

30 13. El inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 12, comprendiendo SEC. DE IDENT. NO: 148.

14. Un método para producir un inmunógeno peptídico al enlazar covalentemente un epítope de célula asistente T de la reivindicación 1 a un sitio antigénico objetivo seleccionado del grupo que consiste de epítopes de células B de un antígeno y un hapteno peptídico.

35 15. El método para producir un inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 14, **caracterizado** porque enlaza adicionalmente el epítope de célula asistente T enlazado covalentemente y un sitio antigénico objetivo a una secuencia inmunoestimuladora.

40 16. El método para producir un inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 15, **caracterizado** porque la secuencia inmuestimuladora es la SEC. DE IDENT. NO: 78.

45 17. El método para producir un inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 16, **caracterizado** porque B se selecciona del grupo que consiste de Gly-Gly, ( $\epsilon$ -N)Lys, Pro-Pro-Xaa-Pro-Xaa-Pro, -NHCH(X)CH<sub>2</sub>SCH<sub>2</sub>CO-, -NHCH(X)CH<sub>2</sub>SCH<sub>2</sub>CO( $\epsilon$ -N)Lys-, -NHCH(X)CH<sub>2</sub>S-succinimidil( $\epsilon$ -N)Lys-, and -NHCH(X)CH<sub>2</sub>S-(succinimidil)-

18. El método para producir un inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 17, **caracterizado** porque B es Gly-Gly.

50 19. El método para producir un inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 18, **caracterizado** porque B es ( $\epsilon$ -N)Lys.

20. El método para inducir una respuesta de célula asistente T *in vitro* al emplear un inmunógeno peptídico de conformidad comprende el célula asistente T con la reivindicación 1.

55 21. El método para inducir una respuesta de célula asistente T *in vitro* al emplear un inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 2.

60 22. El método para inducir una respuesta de célula asistente T *in vitro* al emplear un inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 3.

23. El método para inducir una respuesta de célula asistente T *in vitro* al emplear un inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 4.

65 24. El método para inducir una respuesta de célula asistente T *in vitro* al emplear un inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 5.

## ES 2 346 116 T3

25. El método para inducir una respuesta de célula asistente T *in vitro* al emplear un inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 6.
26. El método para inducir una respuesta de célula asistente T *in vitro* al emplear un inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 7.
27. El método para inducir una respuesta de célula asistente T *in vitro* al emplear un inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 8.
- 10 28. El método para inducir una respuesta de célula asistente T *in vitro* al emplear un inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 9.
29. El método para inducir una respuesta de célula asistente T *in vitro* al emplear un inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 10.
- 15 30. El método para inducir una respuesta de célula asistente T *in vitro* al emplear un inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 11.
- 20 31. El método para inducir una respuesta de célula asistente T *in vitro* al emplear un inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 12.
32. El método para inducir una respuesta de célula asistente T *in vitro* al emplear un inmunógeno peptídico de conformidad con la reivindicación 13.

25

30

35

40

45

50

55

60

65

**LISTA DE SECUENCIAS**

(1) INFORMACIÓN GENERAL:

- 5 (i) SOLICITANTE: UNITED BIOMEDICAL INC., ET AL.  
(ii) TITULO DE LA INVENCIÓN: EPÍTOPIES ARTIFICIALES DE CÉLULAS ASISTENTES T COMO INMUNO ESTIMULADORES PARA INMUNÓGENOS PEPTÍDICOS SINTÉTICOS QUE INCLUYEN PÉPTIDOS LHRH INMUNOGENICOS  
10 (iii) NUMERO DE SECUENCIAS: 151

(iv) DIRIGIR LA CORRESPONDENCIA:

- 15 (A) DESTINATARIO: Morgan & Finnegan, L.L.P.  
(B) CALLE: 345 Park Avenue  
(C) CIUDAD: New York  
(D) ESTADO: NY  
20 (E) PAÍS: EUA  
(F) CÓDIGO POSTAL: 10154-0054

(v) FORMA DE LECTURA EN LA COMPUTADORA:

- 25 (A) TIPO DE MEDIO: Disco flexible  
(B) COMPUTADORA: compatible con una PC IBM  
(C) SISTEMA OPERATIVO: PC Windows  
(D) SOFTWARE: Word 97

30 (vi) DATOS DE LA SOLICITUD ACTUAL:

- 35 (A) NUMERO DE SOLICITUD: A SER ASIGNADO  
(B) FECHA DE PRESENTACIÓN: 21 de junio de 1999  
(C) CLASIFICACIÓN:

(vii) DATOS DE LA SOLICITUD ANTERIOR:

- 40 (A) NUMERO DE SOLICITUD.: 09/100,414  
(B) FECHA DE PRESENTACIÓN: 20 de junio de 1998

(viii) INFORMACIÓN DEL APODERADO/AGENTE:

- 45 (A) NOMBRE: Maria H. Lin  
(B) NUMERO DE REGISTRO: 29,323  
(C) REFERENCIA/NUMERO DE EXPEDIENTE: 1151-4157PC1

(ix) INFORMACIÓN DE LA TELECOMUNICACIÓN:

- 50 (A) TELÉFONO: 212-758-4800  
(B) TELEFAX: 212-751-6849

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 1:

55 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 15 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
60 (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 1:

ES 2 346 116 T3

Leu Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Arg Leu

1 5 10

5 Glu Gly Val

15

10 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 2:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 16 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

20 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 2:

Asp Leu Ser Asp Leu Lys Gly Leu Leu Leu His Lys

25 1 5 10

Leu Asp Gly Leu

30 15

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 3:

35 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 16 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) TOPOLOGÍA: LINEAL

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

40 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 3:

45 Glu Ile Ser Glu Ile Arg Gly Ile Ile Ile His Arg

1 5 10

50 Ile Glu Gly Ile

15

55 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 4:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 16 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) TOPOLOGÍA: LINEAL

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

65 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 4:

ES 2 346 116 T3

Asp Val Ser Asp Val Lys Gly Val Val Val His Lys

1 5 10

5 Val Asp Gly Val

15

10 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 5:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 16 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) TOPOLOGÍA: LINEAL

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 5:

Asp Phe Ser Asp Phe Lys Gly Phe Phe Phe His Lys

25 1 5 10

30 Phe Asp Gly Phe

15

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 6:

35 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 15 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 6:

Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Ile

45 1 5 10

50 Glu Gly Ile

15

55 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 7:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 15 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 7:

# ES 2 346 116 T3

Met Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Met

1 5 10

5 Glu Thr Met

15

10 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 8:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 15 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 8:

25 Leu Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys

1 5 10

30 Leu Glu Gly Val

15

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 9:

35 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 15 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 9:

45 Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Ile

1 5 10

50 Glu Thr Ile

15

55 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 10:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 15 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 10:

ES 2 346 116 T3

Met Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Leu

1 5 10

5  
Glu Gly Met

15  
15

10 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 11:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 15 (A) LONGITUD: 15 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

20 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 11:

Leu Thr Glu Met Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Met

25 1 5 10

30 Glu Thr Val

15

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 12:

35 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 15 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
40 (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 12:

45 Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Ile

1 5 10

50 Glu Thr Ile

15

55 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 13:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 60 (A) LONGITUD: 15 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 13:

ES 2 346 116 T3

Met Ser Glu Met Lys Gly Val Ile Val His Lys Met

1 5 10

5 Glu Gly Met

15

10 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 14:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 15 (A) LONGITUD: 15 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

20 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 14:

25 Leu Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Leu

1 5 10

30 Glu Thr Val

15

35 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 15:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 40 (A) LONGITUD: 19 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 15:

45 Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His

50 1 5 10

Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe

15

55 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 16:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 60 (A) LONGITUD: 19 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 16:

ES 2 346 116 T3

Ile Ser Met Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr

1 5 10

5  
Arg Met Glu Thr Met Leu Phe

15  
10

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 17:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 15  
(A) LONGITUD: 19 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

20  
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 17:

Ile Ser Leu Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His

25  
1 5 10

Lys Leu Glu Gly Val Leu Phe

30  
15

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 18:

35  
(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 19 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
40  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 18:

45  
Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr

1 5 10

50  
Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe

15

55  
(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 19:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 60  
(A) LONGITUD: 19 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

65  
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 19:

ES 2 346 116 T3

Ile Ser Leu Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His

1 5 10

5 Lys Leu Glu Gly Met Leu Phe

15

10

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 20:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 15 (A) LONGITUD: 19 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

20 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 20:

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr

25 1 5 10

Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe

30 15

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 21:

35 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 40 (A) LONGITUD: 19 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 21:

Ile Ser Met Ser Glu Met Lys Gly Val Ile Val His

45 1 5 10

50 Lys Met Glu Gly Met Leu Phe

15

55

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 22:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 60 (A) LONGITUD: 19 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

65 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 22:

ES 2 346 116 T3

Ile Ser Leu Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr

1 5 10

5 Arg Leu Glu Thr Val Leu Phe

15

10 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 23:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 15 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 23:

Phe Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr Ile Pro Gln

25 1 5 10

Ser Leu Asp

30 15

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 24:

35 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 18 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 24:

45 Lys Lys Lys Phe Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr

1 5 10

50 Ile Pro Gln Ser Leu Asp

15

55 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 25:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 14 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 25:

ES 2 346 116 T3

Phe Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr Ile Pro Gln

1 5 10

5  
Ser Leu

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 26:

- 10 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 18 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
15 (D) TOPOLOGÍA: lineal

- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 26:

20 Lys Lys Lys Leu Phe Leu Leu Thr Lys Leu Leu Thr

25 1 5 10

Leu Pro Gln Ser Leu Asp

30 15

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 27:

- 35 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 18 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

- 40 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 27:

45 Arg Arg Arg Ile Lys Ile Ile Thr Arg Ile Ile Thr

50 1 5 10

Ile Pro Leu Ser Ile Arg

55 15

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 28:

- 55 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 18 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
60 (D) TOPOLOGÍA: lineal

- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 28:

65

ES 2 346 116 T3

Lys Lys Lys Val Arg Val Val Thr Lys Val Val Thr

1 5 10

5  
Val Pro Ile Ser Val Asp

15

10  
(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 29:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 15 (A) LONGITUD: 18 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

20 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 29:

25 Lys Lys Lys Phe Phe Phe Phe Thr Lys Phe Phe Thr

1 5 10

30 Phe Pro Val Ser Phe Asp

15

35 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 30:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 40 (A) LONGITUD: 18 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

45 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 30:

50 Lys Lys Lys Leu Phe Leu Leu Thr Lys Leu Leu Thr

1 5 10

55 Leu Pro Phe Ser Leu Asp

15

55 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 31:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 60 (A) LONGITUD: 18 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

65 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 31:

ES 2 346 116 T3

Lys Lys Lys Ile Ile Thr Ile Thr Arg Ile Ile Thr

5 1 5 10

Ile Ile Thr Thr Ile Asp

15

10 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 32:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 15 (A) LONGITUD: 17 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

20 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 32:

25 Lys Lys Lys Ile Ile Thr Ile Thr Arg Ile Ile Thr

1 5 10

30 Ile Ile Thr Thr Ile

15

35 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 33:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 40 (A) LONGITUD: 18 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 33:

45 Lys Lys Lys Met Met Thr Met Thr Arg Met Ile Thr

50 1 5 10

Met Ile Thr Thr Ile Asp

55 15

55 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 34:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 60 (A) LONGITUD: 16 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

65 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 34:

ES 2 346 116 T3

Phe Ile Thr Met Asp Thr Lys Phe Leu Leu Ala Ser

1 5 10

5 Thr His Ile Leu

15 15

10 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 35:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 15 (A) LONGITUD: 19 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

20 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 35:

Lys Lys Lys Phe Ile Thr Met Asp Thr Lys Phe Leu

25 1 5 10

Leu Ala Ser Thr His Ile Leu

30 15

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 36:

35 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 27 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

40 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 36:

45 Leu Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Arg Leu

1 5 10

50 Glu Gly Val Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu

55 15 20

Arg Pro Gly

60 25

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 37:

65 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 28 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido

ES 2 346 116 T3

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

5 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 37:

Asp Leu Ser Asp Leu Lys Gly Leu Leu Leu His Lys

10 1 5 10

Leu Asp Gly Leu Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly

15 15 20

Leu Arg Pro Gly

20 25

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 38:

25 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 28 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(D) TOPOLOGÍA: lineal

30 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 38:

35 Glu Ile Ser Glu Ile Arg Gly Ile Ile Ile His Arg

1 5 10

40 Ile Glu Gly Ile Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly

15 20

45 Leu Arg Pro Gly

25

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 39:

50 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 28 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(D) TOPOLOGÍA: lineal

55 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 39:

60

65

ES 2 346 116 T3

Asp Val Ser Asp Val Lys Gly Val Val Val His Lys

1 5 10

5 Val Asp Gly Val Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly

15 20

10 Leu Arg Pro Gly

25

15

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 40:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 20 (A) LONGITUD: 28 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

25 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 40:

30 Asp Phe Ser Asp Phe Lys Gly Phe Phe Phe His Lys

1 5 10

35 Phe Asp Gly Phe Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly

15 20

40 Leu Arg Pro Gly

25

45 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 41:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 50 (A) LONGITUD: 27 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

55 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 41:

60

65

ES 2 346 116 T3

Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Ile

1 5 10

5

Glu Gly Ile Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu

10 15 20

Arg Pro Gly

15 25

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 42:

20 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 27 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

25 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

30 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 42:

Met Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Met

35 1 5 10

35

Glu Thr Met Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu

40 15 20

40 Arg Pro Gly

45 25

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 43:

50 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 27 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

55 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

60 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 43:

60

65

ES 2 346 116 T3

Leu Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Leu  
1                   5                   10  
5                   Glu Gly Val Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu  
                     15                   20  
10                  Arg Pro Gly  
                     25  
15

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 44:

- 20                   (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
                      (A) LONGITUD: 27 aminoácidos  
                      (B) TIPO: aminoácido  
                      (D) TOPOLOGÍA: lineal  
25                   (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
                      (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 44:

30                  Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Ile  
                      1                   5                   10  
                      Glu Thr Ile Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu  
                      15                   20  
35                  Arg Pro Gly  
                      25

45                  (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 45:

- 50                   (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
                      (A) LONGITUD: 45 aminoácidos  
                      (B) TIPO: aminoácido  
                      (D) TOPOLOGÍA: lineal  
55                   (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
                      (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 45:

60

65

ES 2 346 116 T3

Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala  
1 5 10  
5 Thr Tyr Gln Phe Gly Gly Ile Ser Glu Ile Lys Gly  
10 15 20  
10 Val Ile Val His Lys Ile Glu Gly Ile Gly Gly Glu  
15 25 30 35  
15 His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly  
20 40 45

20 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 46:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 25 (A) LONGITUD: 45 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

30 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

30 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 46:

35 Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala  
35 1 5 10  
40 Thr Tyr Gln Phe Gly Gly Ile Thr Glu Ile Arg Thr  
40 15 20  
45 Val Ile Val Thr Arg Ile Glu Thr Ile Gly Gly Glu  
45 25 30 35  
50 His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly  
50 40 45

55 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 47:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 55 (A) LONGITUD: 27 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

60 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

60 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 47:

ES 2 346 116 T3

Met Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Leu

1 5 10

5 Glu Gly Met Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu

15 20

10 Arg Pro Gly

25

15 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 48:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 20 (A) LONGITUD: 27 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

25 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 48:

Leu Thr Glu Met Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Met

30 1 5 10

35 Glu Thr Val Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu

15 20

40 Arg Pro Gly

25

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 49:

45 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 27 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

50 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 49:

Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Ile

55 1 5 10

60 Glu Thr Ile Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu

15 20

Arg Pro Gly

65 25

ES 2 346 116 T3

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 50:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 5 (A) LONGITUD: 27 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

10 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 50:

Met Ser Glu Met Lys Gly Val Ile Val His Lys Met

15 1 5 10

Glu Gly Met Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu

20 15 20

Arg Pro Gly

25

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 51:

30 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 27 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

35 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 51:

40 Leu Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Leu

1 5 10

45 Glu Thr Val Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu

15 20

50 Arg Pro Gly

25

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 52:

55 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 45 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

60 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 52:

ES 2 346 116 T3

Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala  
1 5 10  
5 Thr Tyr Gln Phe Gly Gly Leu Thr Glu Ile Arg Thr  
15 20  
10 Val Ile Val Thr Arg Leu Glu Thr Val Gly Gly Glu  
25 30 35  
15 His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly  
40 45  
20 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 53:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 31 aminoácidos  
25 (B) TIPO: aminoácido  
(C) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

30 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 53:

Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His  
35 1 5 10  
Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe Gly Gly Glu His Trp  
40 15 20  
Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly  
45 25 30

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 54:

50 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 31 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
55 (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

60 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 54:

Ile Ser Met Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr  
65 1 5 10  
Arg Met Glu Thr Met Leu Phe Gly Gly Glu His Trp

ES 2 346 116 T3

15 20

Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly

25 30

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 55:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 31 aminoácidos
  - (B) TIPO: aminoácido
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 55:

Ile Ser Leu Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His

1 5 10

Gly Val Leu Phe Gly

25 Lys Leu Glu Gly Val Leu Phe Gly Gly Glu His Trp

15 20

30 Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly

25 30

A SEC. IDENT. NO. 56

35 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 56:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 31 aminoácidos
  - (B) TIPO: aminoácido
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 56:

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr

1 5 10

Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe Gly Gly Glu His Trp

15 20

Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly

25 30

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 57:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 49 aminoácidos
  - (B) TIPO: aminoácido

ES 2 346 116 T3

(D) TOPOLOGÍA: lineal  
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 57:

Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala  
1 5 10  
10 Thr Tyr Gln Phe Gly Gly Ile Ser Ile Ser Glu Ile  
15 15 20  
Lys Gly Val Ile Val His Lys Ile Glu Gly Ile Leu  
20 25 30 35  
Phe Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro  
25 30 35  
40 45  
Gly

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 58:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 49 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal  
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 58:

Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala  
1 5 10  
40 45  
10 Thr Tyr Gln Phe Gly Gly Ile Ser Ile Thr Glu Ile  
45 15 20  
Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Ile Glu Thr Ile Leu  
50 25 30 35  
Phe Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro  
55 40 45  
Gly

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 59:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 31 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido

ES 2 346 116 T3

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 59:

5

Ile Ser Leu Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His

10

1                       5                           10

Lys Leu Glu Gly Met Leu Phe Gly Gly Glu His Trp

15

15   20

Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly

20

25   30

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 60:

25

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 47 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(D) TOPOLOGÍA: lineal

30

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 60:

35

Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala

1                       5                           10

40

Thr Tyr Gln Phe Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly

15   20

45

Val Ile Val His Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe Gly

25   30                                   35

50

Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly

40   45

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 61:

55

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 31 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(D) TOPOLOGÍA: lineal

60

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 61:

65

ES 2 346 116 T3

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr  
1 5 10  
5 Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe Gly Gly Glu His Trp  
15 20  
10 Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly  
25 30  
15 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 62:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 20 (A) LONGITUD: 49 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

25 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

25 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 62:

Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala

30 1 5 10

Thr Tyr Gln Phe Gly Gly Ile Ser Ile Thr Glu Ile

35 15 20

Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Ile Glu Thr Ile Leu

40 25 30 35

45 Phe Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro

40 45

50 Gly

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 63:

55 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 47 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

60 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 63:

ES 2 346 116 T3

Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala  
1 5 10  
5 Thr Tyr Gln Phe Ile Ser Met Ser Glu Met Lys Gly  
10 15 20  
10 Val Ile Val His Lys Met Glu Gly Met Leu Phe Gly  
25 30 35  
15 Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly  
20 40 45

20 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 64:

25 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 31 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

30 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 64:

35 Ile Ser Leu Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr  
1 5 10  
40 Arg Leu Glu Thr Val Leu Phe Gly Gly Glu His Trp  
15 20  
45 Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly  
25 30

50 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 65

55 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 27 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 65

ES 2 346 116 T3

Phe Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr Ile Pro Gln  
1 5 10  
5 Ser Leu Asp Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu  
10 15 20  
10 Arg Pro Gly  
15 25  
15

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 66

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 20 (A) LONGITUD: 30 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

25 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 66

Lys Lys Lys Leu Phe Leu Leu Thr Lys Leu Leu Thr

30 1 5 10

Leu Pro Gln Ser Leu Asp Gly Gly Glu His Trp Ser

35 15 20

Tyr Gly Leu Arg Pro Gly

40 25 30

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 67

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 45 (A) LONGITUD: 30 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

50 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 67

55 Arg Arg Arg Ile Lys Ile Ile Thr Arg Ile Ile Thr

1 5 10

60 Ile Pro Leu Ser Ile Arg Gly Gly Glu His Trp Ser

15 20

65 Tyr Gly Leu Arg Pro Gly

25 30

# ES 2 346 116 T3

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 68

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 30 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 68

Lys Lys Lys Val Arg Val Val Thr Lys Val Val Thr

1 5 10

Val Pro Ile Ser Val Asp Gly Gly Glu His Trp Ser

20 15 20

Tyr Gly Leu Arg Pro Gly

25

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 69

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 30 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 69

Lys Lys Lys Phe Phe Phe Thr Lys Phe Phe Thr

40 1 5 10

Phe Pro Val Ser Phe Asp Gly Gly Glu His Trp Ser

45 15 20

Tyr Gly Leu Arg Pro Gly

50 25 30

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 70

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 30 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 70

ES 2 346 116 T3

Lys Lys Lys Leu Phe Leu Leu Thr Lys Leu Leu Thr

1 5 10

5  
Leu Pro Phe Ser Leu Asp Gly Gly Glu His Trp Ser

15 20

10  
Tyr Gly Leu Arg Pro Gly

15 25 30

15  
(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 71:

20  
(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 30 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

25  
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 71:

30  
Lys Lys Lys Ile Ile Thr Ile Thr Arg Ile Ile Thr

1 5 10

35  
Ile Ile Thr Thr Ile Asp Gly Gly Glu His Trp Ser

40  
15 20

45  
Tyr Gly Leu Arg Pro Gly

25 30

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 72:

50  
(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 29 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

55  
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 72:

60

65

## ES 2 346 116 T3

Lys Lys Lys Ile Ile Thr Ile Thr Arg Ile Ile Thr  
1 5 10  
5 Ile Ile Thr Thr Ile Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr  
10 15 20  
10 Gly Leu Arg Pro Gly  
15 25  
15

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 73:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 30 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 73:

Lys Lys Lys Met Met Thr Met Thr Arg Met Ile Thr  
30 1 5 10  
Met Ile Thr Thr Ile Asp Gly Gly Glu His Trp Ser  
35 15 20  
Tyr Gly Leu Arg Pro Gly  
40 25 30

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 74:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 28 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 74:

Phe Ile Thr Met Asp Thr Lys Phe Leu Leu Ala Ser  
55 1 5 10  
Thr His Ile Leu Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly  
60 15 20  
Leu Arg Pro Gly  
65 25

# ES 2 346 116 T3

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 75:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 5 (A) LONGITUD: 46 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

10 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 75:

Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala

15 1 5 10

Thr Tyr Gln Phe Gly Gly Phe Ile Thr Met Asp Thr

20 15 20

Lys Phe Leu Leu Ala Ser Thr His Ile Leu Gly Gly

25 25 30 35

Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly

30 40 45

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 76:

35 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 31 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

40 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 76:

Lys Lys Lys Phe Ile Thr Met Asp Thr Lys Phe Leu

45 1 5 10

Leu Ala Ser Thr His Ile Leu Gly Gly Glu His Trp

50 15 20

Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly

55 25 30

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 77:

60 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 10 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

65 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

ES 2 346 116 T3

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 77:

Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly  
5  
1 5 10

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 78:

- 10 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 16 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
15 (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 78:

20 Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala

25 1 5 10

Thr Tyr Gln Phe

15

30 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 79:

- 35 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 6 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

40 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 79:

45 Pro Pro Xaa Pro Xaa Pro

1 5

50 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 80:

- 55 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 14 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

60 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 80:

Ala Gly Cys Lys Asn Phe Phe Trp Lys Thr Phe Thr

65 1 5 10

Ser Cys

ES 2 346 116 T3

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 81:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 5 (A) LONGITUD: 31 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

10 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 81:

Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Ile

15 1 5 10

Glu Gly Ile Gly Gly Ala Gly Cys Lys Asn Phe Phe

20 15 20

Trp Lys Thr Phe Thr Ser Cys

25 25 30

30 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 82:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 35 (A) LONGITUD: 31 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

40 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 82:

Met Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Met

45 1 5 10

Glu Thr Met Gly Gly Ala Gly Cys Lys Asn Phe Phe

50 15 20

Trp Lys Thr Phe Thr Ser Cys

55 25 30

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 83:

60 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 31 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

65 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 83:

# ES 2 346 116 T3

Leu Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Leu  
1 5 10  
5 Glu Gly Val Gly Gly Ala Gly Cys Lys Asn Phe Phe  
10 15 20  
10 Trp Lys Thr Phe Thr Ser Cys  
15 25 30  
15

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 84:

20 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 31 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

25 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 84:

30 Ala Gly Cys Lys Asn Phe Phe Trp Lys Thr Phe Thr  
1 5 10  
35 Ser Cys Gly Gly Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile  
15 20  
40 Val His Lys Ile Glu Gly Ile  
25 30  
45

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 85:

50 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 31 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

55 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 85:

60

65

ES 2 346 116 T3

Ala Gly Cys Lys Asn Phe Phe Trp Lys Thr Phe Thr

1 5 10

5 Ser Cys Gly Gly Met Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile

15 20

10 Val Thr Arg Met Gly Thr Met

25 30

15 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 86:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 20 (A) LONGITUD: 31 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

25 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

25 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 86:

Ala Gly Cys Lys Asn Phe Phe Trp Lys Thr Phe Thr

30 1 5 10

Ser Cys Gly Gly Leu Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile

35 15 20

Val His Lys Leu Glu Gly Val

40 25 30

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 87:

45 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 34 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

50 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 87:

Lys Lys Lys Ile Ile Thr Ile Thr Arg Ile Ile Thr

55 1 5 10

Ile Ile Thr Thr Ile Asp Gly Gly Ala Gly Cys Lys

60 15 20

Asn Phe Phe Trp Lys Thr Phe Thr Ser Cys

65 25 30

# ES 2 346 116 T3

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 88:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 5 (A) LONGITUD: 30 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

10 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 88:

Cys Asn Gln Gly Ser Phe Leu Thr Lys Gly Pro Ser

15 1 5 10

Lys Leu Asn Asp Arg Ala Asp Ser Arg Arg Ser Leu

20 15 20

Trp Asp Gln Gly Asn Cys

25 25 30

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 89:

30 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 47 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

35 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 89:

Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Ile

40 1 5 10

Glu Gly Ile Gly Gly Cys Asn Gln Gly Ser Phe Leu

45 15 20

Thr Lys Gly Pro Ser Lys Leu Asn Asp Arg Ala Asp

50 25 30 35

Ser Arg Arg Ser Leu Trp Asp Gln Gly Asn Cys

55 40 45

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 90:

60 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 47 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

65 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

ES 2 346 116 T3

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 90:

Met Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Met  
5  
1                   5                   10  
  
Glu Thr Met Gly Gly Cys Asn Gln Gly Ser Phe Leu  
10                   15                   20  
  
Thr Lys Gly Pro Ser Lys Leu Asn Asp Arg Ala Asp  
15                   25                   30                   35  
  
Ser Arg Arg Ser Leu Trp Asp Gln Gly Asn Cys  
20                   40                   45

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 91:

25       (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 47 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

30       (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 91:

Leu Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Leu  
35           1                   5                   10  
  
Glu Gly Val Gly Gly Cys Asn Gln Gly Ser Phe Leu  
40           15                   20  
  
Thr Lys Gly Pro Ser Lys Leu Asn Asp Arg Ala Asp  
45           25                   30                   35  
  
Ser Arg Arg Ser Leu Trp Asp Gln Gly Asn Cys  
50           40                   45

55       (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 92:

      (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 25 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

60       (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

65       (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 92:

# ES 2 346 116 T3

Cys Gly Glu Thr Tyr Gln Ser Arg Val Thr His Pro

1 5 10

5 His Leu Pro Arg Ala Leu Met Arg Ser Thr Thr Lys

10 15 20

10 Cys

25

15 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 93:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 20 (A) LONGITUD: 46 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

25 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 93:

Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His

30 1 5 10

Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe Gly Gly Cys Gly Glu

35 15 20

Thr Tyr Gln Ser Arg Val Thr His Pro His Leu Pro

40 25 30 35

Arg Ala Leu Met Arg Ser Thr Thr Lys Cys

45 40 45

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 94:

50 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 46 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

55 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 94:

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr

60 1 5 10

65 Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe Gly Gly Cys Gly Glu

ES 2 346 116 T3

15 20

5	Thr Tyr Gln Ser Arg Val Thr His Pro His Leu Pro
	25                          30                          35
10	Arg Ala Leu Met Arg Ser Thr Thr Lys Cys
	40                          45

15 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 95:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 42 aminoácidos
  - (B) TIPO: aminoácido
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal

- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

- 25 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 95:

Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Ile

30 1 5 10

Glu Gly Ile Gly Gly Cys Gly Glu Thr Tyr Gln Ser

35 15 20

Arg Val Thr His Pro His Leu Pro Arg Ala

25                   30  
Arg Ser Thr Thr Lys Cys

40

- ### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 42 aminoácidos
  - (B) TIPO: aminoácido
  - (C) TOPOLOGÍA: lineal

- ## (ii) TIPO DE MOLÉCULAS: péptidos

- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 96:

ES 2 346 116 T3

Met Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Met

1 5 10

5 Glu Thr Met Gly Gly Cys Gly Glu Thr Tyr Gln Ser

15 20

10 Arg Val Thr His Pro His Leu Pro Arg Ala Leu Met

25 30 35

15

Arg Ser Thr Thr Lys Cys

20 40

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 97:

25 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 42 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

30 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 97:

35 Leu Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Leu

1 5 10

40 Glu Gly Val Gly Gly Cys Gly Glu Thr Tyr Gln Ser

15 20

45 Arg Val Thr His Pro His Leu Pro Arg Ala Leu Met

25 30 35

50 Arg Ser Thr Thr Lys Cys

40

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 98:

55 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 45 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

60 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 98:

65

ES 2 346 116 T3

Lys Lys Lys Ile Ile Thr Ile Thr Arg Ile Ile Thr  
1 5 10  
5 Ile Ile Thr Thr Ile Asp Gly Gly Cys Gly Glu Thr  
15 20  
10 Tyr Gln Ser Arg Val Thr His Pro His Leu Pro Arg  
25 30 35  
15 Ala Leu Met Arg Ser Thr Thr Lys Cys  
40 45  
20 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 99:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 63 aminoácidos  
25 (B) TIPO: aminoácido  
(C) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

30 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 99:

Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala

35 1 5 10

40 Thr Tyr Gln Phe Gly Gly Lys Lys Ile Ile Thr

15 20

45 Ile Thr Arg Ile Ile Thr Ile Ile Thr Thr Ile Asp

25 30 35

50 Gly Gly Cys Gly Glu Thr Tyr Gln Ser Arg Val Thr

40 45

55 His Pro His Leu Pro Arg Ala Leu Met Arg Ser Thr

50 55 60

60 Thr Lys Cys

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 100:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 38 aminoácidos  
65 (B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

# ES 2 346 116 T3

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 100:

5 Arg His Lys Gln Lys Ile Val Ala Pro Val Lys Gln  
1 5 10  
10 Thr Leu Pro Pro Ser Val Pro Asn Leu Arg Gly Asp  
15 20  
15 Leu Gln Val Leu Ala Gln Lys Val Ala Arg Thr Pro  
25 30 35  
20 Cys Gly

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 101:

25 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 56 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

30 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 101:

35 Lys Lys Lys Ile Ile Thr Ile Thr Arg Ile Ile Thr  
1 5 10  
40 Ile Ile Thr Thr Ile Asp Gly Gly Cys Lys Tyr Gly  
15 20  
45 Glu Asn Ala Val Thr Asn Val Arg Gly Asp Leu Gln  
25 30 35  
50 Val Leu Ala Gln Lys Ala Ala Arg Cys Leu Pro Thr  
40 45  
55 Ser Phe Asn Tyr Gly Ala Ile Lys  
50 55

60 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 102

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 72 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

ES 2 346 116 T3

- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 102

5 Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala  
 10  
 10 Thr Tyr Gln Phe Gly Gly Lys Lys Ile Ile Thr  
 15  
 15 Ile Thr Arg Ile Ile Thr Ile Ile Thr Thr Ile Asp  
 20  
 25 Gly Gly Cys Thr Tyr Gly Thr Gln Pro Ser Arg Arg  
 20  
 30  
 35  
 40  
 45  
 25 Gly Asp Met Ala Ala Leu Ala Gln Arg Leu Ser Arg  
 50  
 55  
 60  
 30 Cys Leu Pro Thr Ser Phe Asn Tyr Gly Ala Val Lys  
 65  
 70

- 35 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 103

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 4 aminoácidos
  - (B) TIPO: aminoácido
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal

- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 103

Asn Ala Asn Pro

50 1

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 36 aminoácidos
  - (B) TIPO: aminoácido
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal

- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 104

# ES 2 346 116 T3

Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His  
1 5 10  
5 Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe Lys Asn Ala Asn Pro  
15 20  
10 Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro  
25 30 35  
15 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 105

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 36 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 105

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr

30 1 5 10

Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe Lys Asn Ala Asn Pro

35 15 20

Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro

40 25 30 35

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 106

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 26 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 106

55 Arg Asp Gly Phe Leu Leu Leu Gln Met Asp Phe Gly

1 5 10

60 Phe Pro Glu His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser

15 20

65 Leu Ser

25

ES 2 346 116 T3

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 107

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 5 (A) LONGITUD: 16 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

10 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 107

15 Phe Gly Phe Pro Glu His Leu Leu Val Asp Phe Leu

20 1                        5                        10

25 Gln Ser Leu Ser

30                        15

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 108

35 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 25 (A) LONGITUD: 16 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

30 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

35 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 108

Phe Gly Phe Pro Lys His Leu Leu Val Asp Phe Leu

40 1                        5                        10

45 Gln Ser Leu Ser

45                        15

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 109

50 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 50 (A) LONGITUD: 26 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

55 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 109

60 Leu Asp Gly Cys Leu Leu Leu Gln Met Asp Phe Gly

65 1                        5                        10

Phe Pro Lys His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser

65                        15                        20

ES 2 346 116 T3

Leu Ser

25

5

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 110

10 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 46 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

15 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 110

20 Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His

1 5 10

25 Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe Lys Arg Asp Gly Phe

15 20

30 Leu Leu Leu Gln Met Asp Phe Gly Phe Pro Glu His

25 30 35

35

Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser

40 45

45 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 111

45 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 46 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

50 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 111

55 Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr

1 5 10

60

65

ES 2 346 116 T3

Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe Lys Arg Asp Gly Phe  
15 20  
5 Leu Leu Leu Gln Met Asp Phe Gly Phe Pro Glu His  
10 25 30 35  
Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser  
40 45  
15 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 112

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 36 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 112

Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His

30 1 5 10

Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe Lys Phe Gly Phe Pro

35 15 20

Glu His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser

40 25 30 35

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 113

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 36 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 113

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr

55 1 5 10

Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe Lys Phe Gly Phe Pro

60 15 20

Glu His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser

65 25 30 35

ES 2 346 116 T3

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 114

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 5 (A) LONGITUD: 35 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

10 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 114

Lys Lys Lys Ile Ile Thr Ile Thr Arg Ile Ile Thr

15 1 5 10

Ile Ile Thr Thr Ile Asp Lys Phe Gly Phe Pro Glu

20 15 20

His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser

25 25 30 35

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 115

30 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 36 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

35 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 115

Ile Ser Leu Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr

40 1 5 10

Arg Leu Glu Thr Val Leu Phe Lys Phe Gly Phe Pro

45 15 20

Glu His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser

50 25 30 35

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 116

55 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 36 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

60 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 116

ES 2 346 116 T3

Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His  
1 5 10  
5 Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe Lys Phe Gly Phe Pro  
10 15 20  
10 Lys His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser  
15 25 30 35

15 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 117

- 20 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 36 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal  
25 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 117

30 Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr

1 5 10  
35 Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe Lys Phe Gly Phe Pro  
15 20

40 Lys His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser  
25 30 35

45 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 118

- 50 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 46 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal  
55 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 118

60

65

ES 2 346 116 T3

Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His  
1 5 10  
5 Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe Lys Leu Asp Gly Cys  
10 15 20  
10 Leu Leu Leu Gln Met Asp Phe Gly Phe Pro Lys His  
25 30 35  
15 Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser  
40 45

20 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 119

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 46 aminoácidos  
25 (B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

30 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 119

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr

35 1 5 10  
Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe Lys Leu Asp Gly Cys  
40 15 20  
Leu Leu Leu Gln Met Asp Phe Gly Phe Pro Lys His  
45 25 30 35  
Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser  
50 40 45

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 120:

55 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 35 aminoácidos  
55 (B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

60 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 120:

ES 2 346 116 T3

Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His  
1 5 10  
5 Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe Pro Pro Xaa Pro Xaa  
10 15 20  
10 Pro Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly  
15 25 30 35  
15

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 121:

- 20 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 35 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal  
25 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 121:

30 Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr  
1 5 10  
35 Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe Pro Pro Xaa Pro Xaa  
15 20  
40 Pro Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly  
25 30 35

45 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 122:

- 50 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 34 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal  
55 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 122:

60

65

ES 2 346 116 T3

Lys Lys Lys Ile Ile Thr Ile Thr Arg Ile Ile Thr

1 5 10

5

Ile Ile Thr Thr Ile Asp Pro Pro Xaa Pro Xaa Pro

10 15 20

Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly

15 25 30

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 123:

20 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 19 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

25 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 123:

30 Ile Ser Leu Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr

1 5 10

35 Arg Leu Glu Thr Val Leu Phe

15

40 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 124:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 19 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

45 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 124:

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr

55 1 5 10

Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe

15

60

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 125:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 31 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido

ES 2 346 116 T3

5

- (D) TOPOLOGÍA: lineal  
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 125:

10

Glu Ser Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn  
1                   5                   10  
Asn Thr Arg Lys Ser Ile Arg Ile Gly Pro Gly Gln  
15                   20  
Ala Phe Tyr Ala Thr Gly Asp  
20                   25                   30

25

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 126:

30

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 51 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal  
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
(ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado  
(B) UBICACIÓN: 22  
(C) OTRA INFORMACIÓN: /nota= “(ε-N)Lys”  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 126:

35

Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His  
1                   5                   10  
Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe Xaa Glu Ser Val Glu  
45                   50                   20  
Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn Thr Arg Lys  
50                   55                   35  
Ser Ile Arg Ile Gly Pro Gly Gln Ala Phe Tyr Ala  
60                   65                   40                   48  
Thr Gly Asp

65

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 127:

# ES 2 346 116 T3

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 51 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado
- (B) UBICACIÓN: 22
- (C) OTRA INFORMACIÓN: /nota= “(ε-N)Lys”

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 127:

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr

20 1 5 10

Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe Xaa Glu Ser Val Glu

25 15 20

Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys

30 25 30 35

Ser Ile Arg Ile Gly Pro Gly Gln Ala Phe Tyr Ala

35 40 48

Thr Gly Asp

50

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 128:

45 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 51 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado
- (B) UBICACIÓN: 20
- (C) OTRA INFORMACIÓN: /nota= “(ε-N)Lys”

55 60 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 128:

ES 2 346 116 T3

Ile Ser Leu Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr  
1 5 10  
5 Arg Leu Glu Thr Val Leu Phe Xaa Glu Ser Val Glu  
10 15 20  
10 Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys  
25 30 35  
15 Ser Ile Arg Ile Gly Pro Gly Gln Ala Phe Tyr Ala  
20 40 48  
20 Thr Gly Asp  
25 50

25 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 129:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
30 (A) LONGITUD: 51 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal  
35 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
(ix) CARACTERÍSTICA:  
40 (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado  
(B) UBICACIÓN: 20  
(C) OTRA INFORMACIÓN: /nota= “(ε-N)Lys”  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 129:

45 Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr  
1 5 10  
50 Arg Ile Glu Thr Val Ile Phe Xaa Glu Ser Val Glu  
15 20  
55 Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys  
25 30 35  
60 Ser Ile Arg Ile Gly Pro Gly Gln Ala Phe Tyr Ala  
40 48  
65 Thr Gly Asp  
50

ES 2 346 116 T3

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 130:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 9 aminoácidos
  - (B) TIPO: aminoácido
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 130:

Lys Ser Ser Gly Lys Leu Ile Ser Leu

1  
5

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 131:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 9 aminoácidos
  - (B) TIPO: aminoácido
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 131:

Cys Asn Gly Arg Leu Tyr Cys Gly Pro

1 5

<sup>35</sup> (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 132:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 10 aminoácidos
  - (B) TIPO: aminoácido
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 132:

Cys Gly Thr Lys Leu Val Cys Phe Ala Ala

1 5

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 133:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 9 aminoácidos
  - (B) TIPO: aminoácido
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 133:

Lys Arg Ile Val Ile Gly Pro Gln Thr

1 5

ES 2 346 116 T3

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 134:

5 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 9 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

10 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 134:

15 Cys Ala Gly Gly Leu Thr Cys Ser Val

1 5

20 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 135:

25 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 11 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

30 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 135:

Cys Ser Gly Arg Leu Tyr Cys His Glu Ser Trp

35 1 5 10

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 136:

40 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 29 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

45 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado
- (B) UBICACIÓN: 10
- (C) OTRA INFORMACIÓN: /nota= “(ε-N)Lys”

50 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 136:

60

65

ES 2 346 116 T3

Lys Ser Ser Gly Lys Leu Ile Ser Leu Xaa Ile Ser

1 5 10

5 Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Ile

15 20

10 Glu Gly Ile Leu Phe  
25

15 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 137:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 20 (A) LONGITUD: 29 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

25 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(ix) CARACTERÍSTICA:

- 30 (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado  
(B) UBICACIÓN: 10  
(C) OTRA INFORMACIÓN: /nota= “(ε-N)Lys”

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 137:

35 Lys Ser Ser Gly Lys Leu Ile Ser Leu Xaa Ile Ser

1 5 10

40 Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Ile

15 20

45 Glu Thr Ile Leu Phe

25

50 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 138:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 55 (A) LONGITUD: 29 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

60 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(ix) CARACTERÍSTICA:

- 65 (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado  
(B) UBICACIÓN: 10  
(C) OTRA INFORMACIÓN: /nota= “(ε-N)Lys”

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 138:

ES 2 346 116 T3

Cys Asn Gly Arg Leu Tyr Cys Gly Pro Xaa Ile Ser

1 5 10

5 Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Ile

10 15 20

10 Glu Gly Ile Leu Phe

15 25

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 139:

20 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 29 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

25 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado
- (B) UBICACIÓN: 10
- (C) OTRA INFORMACIÓN: /nota= “(ε-N)Lys”

30 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 139:

35 Cys Asn Gly Arg Leu Tyr Cys Gly Pro Xaa Ile Ser

40 1 5 10

Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Ile

45 15 20

Glu Thr Ile Leu Phe

50 25

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 140:

55 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 30 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

60 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado
- (B) UBICACIÓN: 11
- (C) OTRA INFORMACIÓN: /nota= “(ε-N)Lys”

ES 2 346 116 T3

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 140:

Cys Gly Thr Lys Leu Val Cys Phe Ala Ala Xaa Ile  
5  
1 5 10  
Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys  
10  
15 20  
Ile Glu Gly Ile Leu Phe  
15 25 30

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 141:

20 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 30 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

25 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado
- (B) UBICACIÓN: 11
- (C) OTRA INFORMACIÓN: /nota= “(ε-N)Lys”

35 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 141:

Cys Gly Thr Lys Leu Val Cys Phe Ala Ala Xaa Ile  
40 1 5 10  
Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg  
45 15 20  
Ile Glu Thr Ile Leu Phe  
50 25 30

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 142:

55 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 29 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

60 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado
- (B) UBICACIÓN: 10
- (C) OTRA INFORMACIÓN: /nota= “(ε-N)Lys”

ES 2 346 116 T3

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 142:

Lys Arg Ile Val Ile Gly Pro Gln Thr Xaa Ile Ser  
5  
1                    5                    10  
Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Ile  
10                    15                    20  
Glu Gly Ile Leu Phe  
15                    25

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 143:

20 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 29 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

25 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado
- (B) UBICACIÓN: 10
- (C) OTRA INFORMACIÓN: /nota= “(ε-N)Lys”

35 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 143:

Lys Arg Ile Val Ile Gly Pro Gln Thr Xaa Ile Ser  
40                    1                    5                    10  
Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Ile  
45                    15                    20  
Glu Thr Ile Leu Phe  
50                    25

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 144:

55 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 29 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

60 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado
- (B) UBICACIÓN: 10
- (C) OTRA INFORMACIÓN: /nota= “(ε-N)Lys”

ES 2 346 116 T3

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 144:

Cys Ala Gly Gly Leu Thr Cys Ser Val Xaa Ile Ser

5 1 5 10

Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Ile

10 15 20

Glu Gly Ile Leu Phe

15 25

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 145:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 20 (A) LONGITUD: 29 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

25 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(ix) CARACTERÍSTICA:

- 30 (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado  
(B) UBICACIÓN: 10  
(C) OTRA INFORMACIÓN: /nota= “(ε-N)Lys”

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 145:

35 Cys Ala Gly Gly Leu Thr Cys Ser Val Xaa Ile Ser

1 5 10

40 Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Ile

15 20

45 Glu Thr Ile Leu Phe

25

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 146:

50 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 31 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

55 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(ix) CARACTERÍSTICA:

- 60 (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado  
(B) UBICACIÓN: 12  
(C) OTRA INFORMACIÓN: /nota= “(ε-N)Lys”

65 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 146:

Cys Ser Gly Arg Leu Tyr Cys His Glu Ser Trp Xaa

ES 2 346 116 T3

1 5 10

5 Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His

10 15 20  
Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe

15 25 30

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 147:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 20 (A) LONGITUD: 31 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

25 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(ix) CARACTERÍSTICA:

- 30 (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado  
(B) UBICACIÓN: 12  
(C) OTRA INFORMACIÓN: /nota= “(ε-N)Lys”

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 147:

35 Cys Ser Gly Arg Leu Tyr Cys His Glu Ser Trp Xaa

1 5 10

40 Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr

15 20

45 Arg Ile Glu Gly Ile Leu Phe

25 30

50 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 148:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 55 (A) LONGITUD: 52 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

60 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 148:

ES 2 346 116 T3

Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His  
1 5 10  
5 Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe Gly Gly Glu Ser Val  
10 15 20  
Glu Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg  
25 30 36  
15 Lys Ser Ile Arg Ile Gly Pro Gly Gln Ala Phe Tyr  
40 45  
20 Ala Thr Gly Asp  
50  
25 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 149:  
30 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
35 (A) LONGITUD: 52 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(D) TOPOLOGÍA: lineal  
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
35 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 149:

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr  
40 1 5 10  
Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe Gly Gly Glu Ser Val  
45 15 20  
Glu Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg  
50 25 30 36  
Lys Ser Ile Arg Ile Gly Pro Gly Gln Ala Phe Tyr  
55 40 45  
Ala Thr Gly Asp  
60 50

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 150:

65 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 50 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido

ES 2 346 116 T3

- (D) TOPOLOGÍA: lineal  
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
5 (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado  
(B) UBICACIÓN: 20  
(C) OTRA INFORMACIÓN: /nota= “(ε-N)Lys”  
10 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 150:

Ile Ser Leu Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr  
15 1 5 10  
Arg Leu Glu Thr Val Leu Phe Xaa Glu Ser Val Glu  
20 15 20  
Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys  
25 25 30 35  
Ser Ile Arg Ile Gly Pro Gly Gln Ala Phe Tyr Ala  
30 40 48  
Thr Gly  
35 50

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEC. IDENT. NO: 151:

- 40 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 50 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
45 (D) TOPOLOGÍA: lineal  
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido  
(ix) CARACTERÍSTICA:  
50 (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado  
(B) UBICACIÓN: 20  
(C) OTRA INFORMACIÓN: /nota= “(ε-N)Lys”  
55 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. IDENT. NO: 151:

60

65

## ES 2 346 116 T3

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr  
1                    5                    10  
5 Arg Ile Glu Thr Val Ile Phe Xaa Glu Ser Val Glu  
10                    15                    20  
10 Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys  
15                    25                    30                    35  
15 Ser Ile Arg Ile Gly Pro Gly Gln Ala Phe Tyr Ala  
20                    40                    48  
20 Thr Gly  
25                    50  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65