

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 670 576**

51 Int. Cl.:

**C12N 9/64** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.08.2010 PCT/IB2010/053784**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.03.2011 WO11027257**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.08.2010 E 10754583 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.04.2018 EP 2473605**

54 Título: **Vacuna de PCSK9**

30 Prioridad:

**03.09.2009 US 239541 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**31.05.2018**

73 Titular/es:

**PFIZER VACCINES LLC (100.0%)  
253 East, 42nd Street  
New York NY 10017-5755, US**

72 Inventor/es:

**CHAMPION, BRIAN, ROBERT;  
CONTILLO, JR., LEONARD, GABRIEL;  
EISENBRAUN, MICHAEL, DALE;  
FRASER, JAMES, DOWNEY;  
HAWKINS, JULIE, JIA, LI;  
MERSON, JAMES, RICHARD;  
PIERCE, BRIAN, GREGORY;  
QIU, XIAYANG;  
ULLAH, JAKIR, HUSSAIN y  
WYATT, DAVID, MICHAEL**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 670 576 T3

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

Vacuna de PCSK9

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a la disposición de nuevos inmunógenos que comprenden un péptido de PCSK9 antigénico unido a un vehículo inmunogénico para la prevención, tratamiento o alivio de trastornos relacionados con PCSK9. La divulgación además se refiere a procedimientos para la producción de estos medicamentos, composiciones inmunogénicas y composiciones farmacéuticas de los mismos y a su uso en medicina.

**Antecedentes**

10 La proproteína convertasa subtilisina-kexina tipo 9 (denominada en lo sucesivo "PCSK9"), también conocida como convertasa 1 neural regulada por la apoptosis ("NARC-1"), es una proteinasa subtilasa de tipo K identificada como el 9º miembro de la familia de PCSK de mamífero; véase Seidah y col, 2003 PNAS 100: 928-933. El gen de la PCSK9 se localiza en el cromosoma humano 1p33-p34.3. La PCSK9 se expresa en células con capacidad de proliferación y diferenciación incluyendo, por ejemplo, hepatocitos, células mesenquimatosas renales, ileon intestinal y epitelio de colon, así como neuronas del telencéfalo del cerebro embrionario.

15 La síntesis original de PCSK9 es en forma de un precursor de enzima inactivo, o zimógeno, de ~72 kDa que experimenta un procesamiento intramolecular autocatalítico en el retículo endoplásmico ("RE") para activar su funcionalidad. La secuencia del gen de la PCSK9 humana, que tiene una longitud de ~22 kb con 12 exones que codifican una proteína de 692 aminoácidos, puede encontrarse, por ejemplo, en el número de depósito NP\_777596.2. Se han depositado las secuencias de ácido nucleico de PCSK9 de ser humano, ratón y rata; véanse, por ejemplo, los N° de Acceso del GenBank: AX127530 (también AX207686), AX207688 y AX207690, respectivamente.

20 La PCSK9 humana es una proteína secretada expresada principalmente en los riñones, hígado e intestinos. Tiene tres dominios: un pro-dominio inhibitorio (aminoácidos 1-152; incluyendo una secuencia señal en los aminoácidos 1-30), un dominio catalítico (aminoácidos 153-448) y un dominio C-terminal de 210 restos de longitud (aminoácidos 449-692) que es rico en restos de cisteína. La PCSK9 se sintetiza como un zimógeno que experimenta escisión autocatalítica entre el pro-dominio y el dominio catalítico en el retículo endoplásmico. El pro-dominio permanece unido a la proteína madura después de la escisión, y el complejo se secreta. El dominio rico en cisteína puede jugar un papel análogo a los dominios P-(procesamiento) de otras serina proteasas de tipo Furina/Kexina/Subtilisina, que parecen ser esenciales para el plegamiento y regulación de la proteasa activada. Ciertas mutaciones en PCSK9 están asociadas con niveles anormales de colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (LDL-c) en el plasma sanguíneo (Horton y col., 2006 Trends. Biochem. Sci. 32(2): 71-77).

25 A la PCSK9 se le ha atribuido un papel en la diferenciación de células hepáticas y neuronales (Seidah y col, anteriormente), se expresa en altas cantidades en hígado embrionario y se ha implicado fuertemente en la homeostasis del colesterol.

30 Es muy deseable la identificación de compuestos y/o agentes eficaces en el tratamiento de afecciones cardiovasculares. Ya se ha demostrado en ensayos clínicos que las reducciones en los niveles de colesterol LDL están directamente relacionadas con la tasa de acontecimientos coronarios; Law y col, 2003 BMJ 326: 1423-1427. Más recientemente se ha demostrado que una reducción moderada a lo largo de la vida en los niveles plasmáticos de colesterol LDL está correlacionada sustancialmente con una reducción sustancial en la incidencia de acontecimientos coronarios; Cohen y col, anteriormente. Se descubrió que esto ocurría incluso en poblaciones con una alta prevalencia de factores de riesgo cardiovasculares no relacionados con lípidos; anteriormente.

35 Por consiguiente, tiene una gran importancia identificar agentes terapéuticos que permitan el control de los niveles de colesterol LDL.

40 Por consiguiente, sería de gran importancia producir un medicamento que inhiba o antagonice la actividad de PCSK9 y el papel correspondiente que juega PCSK9 en diversas afecciones terapéuticas.

45 La expresión o regulación positiva de PCSK9 está asociada con un aumento de los niveles plasmáticos de colesterol LDL, y la inhibición o la ausencia de expresión de PCSK9 está asociada con bajos niveles plasmáticos de colesterol LDL. De forma significativa, los menores niveles de colesterol LDL asociados con variaciones de secuencia en PCSK9 han conferido protección contra la cardiopatía coronaria; Cohen, 2006 N. Engl. J. Med. 354: 1264-1272.

**Sumario de la invención**

50 La presente invención se refiere a un inmunógeno que comprende un péptido antigénico de PCSK9 y un vehículo inmunogénico.

La divulgación también se refiere a procedimientos para producir dicho péptido antigénico de PCSK9 opcionalmente unido a un vehículo inmunogénico.

La invención también se refiere a composiciones inmunogénicas que comprenden dicho péptido antigénico de PCSK9 unido a un vehículo inmunogénico, que comprende opcionalmente uno o varios adyuvantes, preferentemente uno o dos adyuvantes.

5 Otro aspecto de la invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden un péptido antigénico de PCSK9 de acuerdo con la invención, o una composición inmunogénica del mismo, así como a usos médicos de estas composiciones.

En particular, la invención se refiere a un péptido antigénico de PCSK9 de la invención, o a una composición inmunogénica o farmacéutica del mismo, para su uso como un medicamento, preferentemente en el tratamiento, alivio o profilaxis de trastornos relacionados con PCSK9.

10 En particular, la invención se refiere a un péptido antigénico de PCSK9 de la invención, o a una composición inmunogénica o farmacéutica del mismo, para su uso como un medicamento, preferentemente en el tratamiento, alivio o profilaxis de enfermedades asociadas con un nivel elevado de colesterol.

Los péptidos antigénicos de PCSK9 de la invención son particularmente adecuados para tratar a pacientes humanos que tienen, o con riesgo de tener, el colesterol-LDL elevado o una afección asociada con el colesterol-LDL elevado, por ejemplo, un trastorno de lípidos (por ejemplo, hiperlipidemia, hiperlipidemia tipo I, tipo II, tipo III, tipo IV o tipo V, e hipertrigliceridemia secundaria, hipercolesterolemia, hipercolesterolemia familiar, xantomatosis, deficiencia de colesterol acetiltransferasa). El péptido antigénico de PCSK9 de la invención también es adecuado para tratar a pacientes humanos que tienen afecciones arterioscleróticas (por ejemplo aterosclerosis), arteriopatía coronaria, enfermedad cardiovascular y pacientes con riesgo de padecer estos trastornos, por ejemplo, debido a la presencia de uno o más factores de riesgo (por ejemplo, hipertensión, tabaquismo, diabetes, obesidad o hipermocisteinemia).

20 En otro aspecto más, la presente invención proporciona el uso de un péptido antigénico de PCSK9 de la invención o de una composición inmunogénica o una composición farmacéutica del mismo, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

25 En otra realización, el péptido antigénico de PCSK9, o una composición inmunogénica o una composición farmacéutica del mismo, se administra junto con otro agente.

### **Breve descripción de los dibujos**

Figura 1: La estructura PDB de PCSK9 humana unida al dominio EGF-A de LDL-R (3BPS) demuestra 5 secuencias peptídicas en PCSK9 (péptidos 1-5) elegidas como implicadas en la interacción entre estas dos proteínas.

30 Figura 2: Se inmunizaron ratones con péptidos VR\_9.1 a VR\_9.9 conjugados con VLP, usando alumbre más CpG como adyuvante y se midieron las respuestas de anticuerpos contra PCSK9 humana recombinante de longitud completa mediante la titulación de sueros en un ensayo ELISA. Los resultados se muestran como los títulos recíprocos para cada uno de 6 ratones por grupo, midiéndose el título recíproco como la dilución de suero que proporciona una lectura de densidad óptica de 0,5.

35 Figura 3: Respuestas de anticuerpos contra la proteína PCSK9 de ratón recombinante de longitud completa descrita en la Figura 2.

Figura 4: Niveles plasmáticos de colesterol medidos en los sueros de ratones vacunados (las mismas muestras que se usaron para los ensayos de anticuerpos en las Figuras 2 y 3).

40 Figura 5: Las muestras de plasma usadas en las Figs. 2 a 4 se ensayaron a diferentes diluciones con respecto a su capacidad de inhibir la interacción entre PCSK9 recombinante y el dominio extracelular del receptor de LDL como se mide por el ensayo FRET.

Figura 6: Dilución de muestras de plasma de vacunaciones con péptidos VR\_9.5 y VR\_9.6 en ensayo FRET, que muestra la inhibición que responde a la dosis de la interacción entre PCSK9 y el receptor de LDL.

45 Figura 7: Complejo de PCSK9 (cintas) y EGF-A (relleno de espacio) de PDB:3BPS. Las posibles regiones de PCSK9 que pueden interactuar con dominios de LDLR distintos de EGF-A se indican por la elipse.

Figura 8: Se representa el complejo de PCSK9 (cintas) y EGF-A (relleno de espacio) con los aminoácidos correspondientes a los péptidos VR\_13/14 (A) y VR\_15/16 (B) y VR\_9.5 (C).

50 Figuras 9 y 10: Respuestas de anticuerpos en plasma de ratones vacunados con péptidos VR\_9.5 y VR\_9.10 a VR\_9.16. Los anticuerpos contra PCSK9 de ratón se midieron por ensayo ELISA de diluciones seriadas de plasma usando la proteína PCSK9 de ratón de longitud completa. Se muestran curvas de titulación individuales para 8 ratones por grupo, con respuestas de ELISA de plasma de ratones inmunizados con VLP no conjugadas mostradas como control.

55 Figura 11: Respuestas de anticuerpos en suero contra proteína PCSK9 humana de longitud completa inducida en ratones BALB/c y C57BL/6 vacunados con péptido VR\_9.5 o VR\_9.10 conjugado con VLP (usando Alumbre +/- CpG como adyuvante) o CRM197 (usando TiterMax como adyuvante). Se midieron los anticuerpos contra PCSK9 humana por titulación de sueros en un ensayo ELISA. Los resultados se muestran como el logaritmo de

los títulos recíprocos determinados a una densidad óptica de 1,0 para cada uno de 8 ratones por grupo.

5 Figura 12: Respuestas de anticuerpos en suero contra proteína PCSK9 de ratón de longitud completa inducidas en ratones BALB/c y C57BL/6 vacunados como se describe para la Figura 11. Los resultados se muestran como logaritmo de los títulos recíprocos determinados a una densidad óptica de 0,5 para cada uno de 8 ratones por grupo.

Figura 13: Niveles de colesterol total medidos en las muestras de suero de ratones vacunados BALB/c (las mismas muestras que se usaron para los ensayos de anticuerpo en las Figuras 11 y 12).

Figura 14: Niveles totales de colesterol medidos en las muestras de suero de ratones vacunados C57BL/6 (las mismas muestras que se usaron para los ensayos de anticuerpo en las Figuras 11 y 12).

10 Figura 15: Respuestas de anticuerpos contra PCSK9 humana de longitud completa inducida en ratones BALB/c inmunizados con péptidos VR\_9.5 o VR\_9.17 a VR\_9.35 conjugados con VLP usando Alumbre más CpG como adyuvante. Los anticuerpos contra PCSK9 humana se midieron por titulación de sueros en un ensayo ELISA. Los resultados se muestran como el logaritmo de los títulos recíprocos determinados a una densidad óptica de 1,0 para cada uno de 8 ratones por grupo.

15 Figura 16: Respuestas de anticuerpos contra PCSK9 de ratón de longitud completa inducida en ratones BALB/c inmunizados como se describe para la Figura 15. Los anticuerpos contra PCSK9 de ratón se midieron por titulación de sueros en un ensayo ELISA. Los resultados se muestran como el logaritmo de los títulos recíprocos determinados a una densidad óptica de 0,5 para cada uno de 8 ratones por grupo.

20 Figura 17: Niveles de colesterol total medidos en las muestras de suero de ratones vacunados BALB/c (las mismas muestras que se usaron para los ensayos de anticuerpos en las Figuras 15 y 16).

Figura 18: Complejo de PCSK9 (cintas) y EGF-A (relleno de espacio) con regiones de PCSK9 que contienen secuencias de aminoácidos ligadas a mutaciones de obtención o pérdida de función y/o epítopes expuestos en la superficie de la proteína indicados por elipses.

**Descripción detallada de la invención**

25 **Péptido antigénico de PCSK9 de la invención**

La presente invención se refiere a un inmunógeno que comprende un péptido antigénico de PCSK9 unido a un vehículo inmunogénico.

30 El péptido antigénico de PCSK9 se selecciona entre el grupo constituido por las SEQ ID NO: 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358 y 359.

En otra realización, el péptido antigénico de PCKS9 es una parte de PCSK9 que puede participar en la interacción con el dominio EGF-A del receptor de LDL. En la Figura 1 se representan ejemplos de dichas partes.

35 En otra realización, el péptido antigénico de PCSK9 es una parte de PCSK9 que puede participar en la interacción con el dominio de EGF-A del receptor de LDL, que comprende entre 4 y 20 aminoácidos y, cuando se administra a un sujeto, puede reducir el nivel de colesterol-LDL en la sangre de dicho sujeto. Preferentemente, dicho sujeto es un mamífero, preferentemente un ser humano. Preferentemente, dicho péptido antigénico de PCSK9 puede reducir el nivel de colesterol-LDL al menos en un 2% 5% 10% 20% 30% o 50%.

40 En otra realización, el péptido antigénico de PCSK9 se selecciona entre el grupo constituido por las SEQ ID NO: 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225 y 226.

45 En otra realización, el péptido antigénico de PCSK9 se selecciona entre el grupo constituido por las SEQ ID NO: 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358 y 359.

En otra realización preferida, el péptido antigénico de PCSK9 se selecciona entre el grupo constituido por las SEQ ID NO: 184, 186, 187, 188 y 332.

En otra realización más preferida, el péptido antigénico de PCKSK9 es un péptido de la secuencia SEQ ID NO: 184 o 187.

50 En otra realización más preferida, el péptido antigénico de PCKSK9 es un péptido de la secuencia SEQ ID NO 184. En otra realización más preferida, el péptido antigénico de PCKSK9 es un péptido de la secuencia SEQ ID NO: 332.

Dichos péptidos antigénicos de PCSK9 pueden usarse solos o en combinación, cuando se conjugan con un vehículo

inmunogénico, para inducir autoanticuerpos anti-PCSK9 en un sujeto para tratar, prevenir o mejorar trastornos relacionados con PCSK9.

Serán evidentes para el experto en la materia las técnicas que pueden usarse para confirmar si una construcción específica está dentro del alcance de la presente invención. Estas técnicas incluyen, pero sin restricción, las técnicas descritas en la sección de Ejemplos de la presente solicitud, y también las siguientes.

La capacidad del péptido antigénico de PCSK9 de la invención para inducir autoanticuerpos anti-PCSK9 puede medirse en ratones, usando el ensayo descrito en el ejemplo 3 de la presente solicitud. La capacidad de los autoanticuerpos inducidos por el péptido antigénico de PCSK9 de la invención para reducir el nivel de colesterol en plasma circulante puede medirse en ratones usando el ensayo descrito en el ejemplo 3. La capacidad de los autoanticuerpos inducidos por el péptido antigénico de PCSK9 de la invención para inhibir la interacción entre PCSK9 y receptores de LDL puede medirse directamente usando el ensayo descrito en el ejemplo 3 (ensayo FRET) o indirectamente midiendo la regulación positiva de receptores de LDL de la superficie celular, que es una consecuencia del bloqueo de la regulación negativa mediada por PCSK9 (así como descrita en la bibliografía pertinente, usando líneas de células *in vitro* o midiendo los niveles de receptor de LDL en biopsias de hígado de animales que expresan anticuerpos (por ejemplo, por transferencia de Western)).

La expresión “actividad biológica de péptido antigénico de PCSK9”, cuando se usa en el presente documento, se refiere a la capacidad de los péptidos antigénicos de PCSK9 de la invención de inducir autoanticuerpos anti-PCSK9 en un paciente.

Preferentemente, dicho péptido antigénico de PCSK9, cuando se administra a un sujeto, puede reducir el nivel de colesterol-LDL en la sangre de dicho sujeto. Preferentemente, dicho sujeto es un mamífero, preferentemente un ser humano. Preferentemente, dicho péptido antigénico de PCSK9 puede reducir el nivel de colesterol-LDL al menos en un 2%, 5%, 10%, 20%, 30% o 50%.

En otra realización, los péptidos antigénicos de PCSK9 de la presente divulgación tienen un tamaño tal que imitan una región seleccionada entre el dominio entero de PCSK9 en el que se encuentra el epítipo nativo. En otra realización particular, los péptidos antigénicos de PCSK9 de la divulgación tienen menos de 100 aminoácidos de longitud, preferentemente menos de 75 aminoácidos, más preferentemente menos de 50 aminoácidos e incluso más preferentemente menos de 40 aminoácidos. Los péptidos antigénicos de PCSK9 de la divulgación típicamente tienen 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 aminoácidos de longitud, preferentemente de 4 a 20 aminoácidos, por ejemplo de 6 a 12, de 6 a 8 o de 9 a 12 aminoácidos. En la lista de secuencias se proporcionan ejemplos específicos de péptidos antigénicos de PCSK9 de la invención e incluyen péptidos que varían de 5 a 17 aminoácidos de longitud.

Los péptidos antigénicos de la invención incluyen una secuencia de aminoácidos derivada de una parte de una PCSK9 de mamífero, preferentemente una PCSK9 humana (SEQ ID NO: 399) o PCSK9 de ratón (SEQ ID NO: 400), más preferentemente PCSK9 humana, correspondiendo dicha parte derivada de PCSK9 a la secuencia de aminoácidos de la PCSK9 natural o correspondiendo a una PCSK9 variante, es decir, la secuencia de aminoácidos de la PCSK9 natural en la que se ha sustituido, añadido o delecionado un pequeño número de aminoácidos, pero que retiene esencialmente las mismas propiedades inmunológicas. Además, dicha parte de PCSK9 derivada puede modificarse adicionalmente por aminoácidos, especialmente en los extremos N- y C-, para permitir que el péptido antigénico de PCSK9 esté limitado conformacionalmente y/o para permitir el acoplamiento del péptido antigénico de PCSK9 a un vehículo inmunogénico después de haber realizado una química apropiada.

Los péptidos antigénicos de PCSK9 descritos en el presente documento incluyen péptidos variantes funcionalmente activos derivados de la secuencia de aminoácidos de PCSK9 en la que se han delecionado, insertado o sustituido aminoácidos sin perjudicar esencialmente a sus propiedades inmunológicas, es decir, dichos péptidos variantes funcionalmente activos retienen una actividad biológica sustancial del péptido antigénico de PCSK9. Típicamente, dichos péptidos funcionalmente variantes tienen una secuencia de aminoácidos homóloga, preferentemente con una alta homología con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEQ ID NO: 1 a 312, 330 a 398 y 420 a 588.

En otra realización, dichos péptidos variantes funcionalmente activos presentan una identidad de al menos un 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% o 95% con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo constituido por las SEQ ID NO: 1 a 312, 330 a 398 y 420 a 588.

La similitud de secuencias para los polipéptidos, que también se denomina identidad de secuencia, típicamente se mide usando un software de análisis de secuencia. Los software de análisis de proteínas emparejan secuencias similares usando medidas de similitud asignadas a diversas sustituciones, deleciones y otras modificaciones, incluyendo sustituciones de aminoácidos conservativas. Por ejemplo, GCG contiene programas tales como “Gap” y “Bestfit” que pueden usarse con parámetros por defecto para determinar la homología de secuencia o la identidad de secuencia entre polipéptidos muy relacionados, tales como polipéptidos homólogos de diferentes especies de organismos o entre una proteína de tipo silvestre y una mutada de la misma. Véase, por ejemplo, GCG Versión 6.1. Las secuencias polipeptídicas también pueden compararse usando FASTA usando los parámetros por defecto o recomendados, un programa en GCG Versión 6.1. FASTA (por ejemplo FASTA2 y FASTA3) proporciona alineamientos y porcentajes de identidad de secuencia de las regiones de la mejor coincidencia entre las secuencias

de consulta y de búsqueda (Pearson, *Methods Enzymol.* **183**: 63-98 (1990); Pearson, *Methods Mol. Biol.* **132**: 185-219 (2000)). Un algoritmo alternativo cuando se compara una secuencia de la invención con una base de datos que contiene un gran número de secuencias de diferentes organismos es el programa informático BLAST, especialmente blastp o tblastn, usando los parámetros por defecto. Véase, por ejemplo, y Altschul y col., *J. Mol. Biol.* **215**: 403-410 (1990); Altschul y col., *Nucleic Acids Res.* **25**: 3389-402 (1997).

Las variantes funcionalmente activas comprenden variantes funcionalmente activas naturales tales como variantes alélicas y variantes de especie y variantes funcionalmente activas no naturales que pueden producirse, por ejemplo, por técnicas de mutagénesis o por síntesis directa.

Una variante funcionalmente activa difiere, por ejemplo, en aproximadamente 1, 2, 3, 4 o 5 restos aminoacídicos de cualquiera de los péptidos mostrados en las SEQ ID NO: 1 a 312, 330 a 398 y 420 a 588, pero sigue reteniendo la actividad biológica del péptido antigénico de PCSK9. Cuando esta comparación requiere alineamiento, las secuencias se alinean para conseguir una homología máxima. El sitio de variación puede estar en cualquier sitio en el péptido, siempre que la actividad biológica sea sustancialmente similar a un péptido mostrado en las SEQ ID NO: 1 a 312, 330 a 398 y 420 a 588.

En Bowie y col. *Science*, **247**: 1306-1310 (1990), que enseña que hay dos estrategias principales para estudiar la tolerancia de una secuencia de aminoácidos al cambio, se proporciona una pauta en relación con cómo fabricar sustituciones de aminoácidos fenotípicamente silenciosas.

La primera estrategia explota la tolerancia de sustituciones de aminoácidos por selección natural durante el proceso de evolución. Comparando la secuencia de aminoácidos en diferentes especies, pueden identificarse las posiciones de aminoácidos que se han conservado entre especies. Estos aminoácidos conservados probablemente serán importantes para la función de la proteína. Por el contrario, las posiciones de aminoácidos en las que se han tolerado sustituciones por selección natural indican posiciones que no son críticas para la función de las proteínas. De esta manera, las posiciones que toleran la sustitución de aminoácidos pueden modificarse mientras que se mantiene la actividad inmunogénica específica del péptido modificado.

La segunda estrategia usa ingeniería genética para introducir cambios de aminoácidos en posiciones específicas de un gen clonado para identificar regiones críticas para la función de las proteínas. Por ejemplo, puede usarse mutagénesis dirigida o mutagénesis mediante alanina (Cunningham y col., *Science*, **244**: 1081-1085 (1989)). Los péptidos variantes resultantes pueden ensayarse después con respecto a la actividad biológica antigénica de PCSK9 específica.

De acuerdo con Bowie y col., estas dos estrategias han revelado que las proteínas son sorprendentemente tolerantes a sustituciones de aminoácidos. Los autores indican además los cambios de aminoácidos que probablemente serán permisivos en ciertas posiciones de aminoácidos de la proteína. Por ejemplo, los restos aminoacídicos más ocultos o interiores (dentro de la estructura terciaria de la proteína) requieren cadenas laterales no polares, mientras que generalmente se conservan algunas características de las cadenas laterales de superficie o exteriores.

Los procedimientos para introducir una mutación en aminoácidos de una proteína son bien conocidos para los expertos en la materia. Véase, por ejemplo, Ausubel (ed.), *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley and Sons, Inc. (1994); T. Maniatis, E. F. Fritsch y J. Sambrook, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor laboratory, Cold Spring Harbor, N. Y. (1989).

También pueden introducirse mutaciones usando kits disponibles en el mercado tales como el "kit de mutagénesis dirigida de QuickChangeTM" (Stratagene) o directamente por síntesis de péptidos. La generación de una variante funcionalmente activa de un péptido antigénico de PCSK9 reemplazando un aminoácido que no influye significativamente en la función de dicho péptido antigénico de PCSK9 puede realizarse por un experto en la materia.

Un tipo de sustitución de aminoácido que puede realizarse en uno de los péptidos de acuerdo con la invención es una sustitución de aminoácido conservativa. Una "sustitución de aminoácido conservativa" es una en la que un resto aminoacídico se sustituye por otro resto aminoacídico que tiene un grupo R de cadena lateral con propiedades químicas similares (por ejemplo, carga o hidrofobia). En general, una sustitución de aminoácido conservativa no cambiará sustancialmente las propiedades funcionales de una proteína. En casos en los que dos o más secuencias de aminoácidos difieren entre sí por sustituciones conservativas, el porcentaje de identidad de secuencia o grado de similitud puede ajustarse hacia arriba para corregir la naturaleza conservativa de la sustitución. Los expertos en la materia conocen bien los medios para realizar este ajuste. Véase, por ejemplo, Pearson, *Methods Mol. Biol.* **243**: 307-31 (1994).

Los ejemplos de grupos de aminoácidos que tienen cadenas laterales con propiedades químicas similares incluyen 1) cadenas laterales alifáticas: glicina, alanina, valina, leucina e isoleucina; 2) cadenas laterales hidroxil-alifáticas: serina y treonina; 3) cadenas laterales que contienen amida: asparagina y glutamina; 4) cadenas laterales aromáticas: fenilalanina, tirosina y triptófano; 5) cadenas laterales básicas: lisina, arginina e histidina; 6) cadenas laterales ácidas: ácido aspártico y ácido glutámico; y 7) cadenas laterales que contienen azufre: cisteína y metionina. Son grupos de sustitución de aminoácidos conservativos preferidos: valina-leucina-isoleucina, fenilalanina-tirosina, lisina-arginina, alanina-valina, glutamato-aspartato y asparagina-glutamina. Como alternativa, un reemplazo conservativo es cualquier cambio que tenga un valor positivo en la matriz del logaritmo de probabilidad PAM250 desvelado en Gonnet y col., *Science* **256**: 1443-45 (1992). Un reemplazo "moderadamente conservativo" es cualquier cambio que tenga un valor no negativo en la matriz del logaritmo de probabilidad PAM250.

Un péptido variante funcionalmente activo también puede aislarse usando una técnica de hibridación. En resumen, se usa ADN que tiene una alta homología con la totalidad o parte de una secuencia de ácido nucleico que codifica el

péptido de interés, por ejemplo, las SEQ ID NO: 1 a 312, 330 a 398 y 420 a 588, para preparar un péptido funcionalmente activo. Por lo tanto, un péptido antigénico de PCSK9 de la divulgación también incluye péptidos que son funcionalmente equivalentes a uno más de los péptidos de las SEQ ID NO: 1 a 312, 330 a 398 y 420 a 588 y que están codificados por una molécula de ácido nucleico que hibrida con un ácido nucleico que codifica una cualquiera de las SEQ ID NO: 1 a 312, 330 a 398 y 420 a 588, o un complemento de las mismas. Un experto en la materia puede determinar fácilmente las secuencias de ácido nucleico que codifican péptidos de la divulgación usando tablas de codones fácilmente adquiribles. Estas secuencias de ácido nucleico no se presentan, como tales, en el presente documento.

La rigurosidad de la hibridación para un ácido nucleico que codifica un péptido, polipéptido o proteína que es una variante funcionalmente activa es, por ejemplo, formamida al 10%, SSPE 5x, solución de Denhart 1x y ADN de esperma de salmón 1x (condiciones de baja rigurosidad). Son condiciones más preferentes, formamida al 25%, SSPE 5x, solución de Denhart 1x y ADN de esperma de salmón 1x (condiciones de rigurosidad moderada) y son condiciones incluso más preferentes formamida al 50%, SSPE 5x, solución de Denhart 1x y ADN de esperma de salmón 1x (condiciones de alta rigurosidad). Sin embargo, varios factores influyen en la rigurosidad de la hibridación aparte de la concentración de formamida descrita anteriormente, y un experto en la materia puede seleccionar de forma adecuada estos factores para conseguir una rigurosidad similar.

También pueden aislarse moléculas de ácido nucleico que codifican una variante funcionalmente activa por un procedimiento de amplificación génica tal como PCR usando una parte de una molécula de ácido nucleico de ADN que codifica un péptido, polipéptido o proteína de interés, por ejemplo, uno cualquiera de los péptidos mostrados en las SEQ ID NO: 1 a 312, 330 a 398 y 420 a 588, como sonda.

En otra realización de la invención, un péptido de la invención procede de una fuente natural y se aísla a partir de un mamífero, tal como un ser humano, un primate, un gato, un perro, un caballo, un ratón o una rata, preferentemente a partir de una fuente humana. Por lo tanto, un péptido de la invención puede aislarse a partir de fuentes de células o tejidos usando técnicas de purificación de proteínas convencionales.

Como alternativa, los péptidos de la invención pueden sintetizarse químicamente o producirse usando técnicas de ADN recombinante.

Por ejemplo, un péptido de la invención puede sintetizarse por procedimientos en fase sólida bien conocidos en la técnica. Las síntesis adecuadas pueden realizarse utilizando procedimientos "T-boc" o "F-moc". Los péptidos cíclicos pueden sintetizarse por el procedimiento en fase sólida empleando el procedimiento "F-moc" bien conocido y una resina de poliamida en un aparato totalmente automático. Como alternativa, los expertos en la materia conocerán los procedimientos de laboratorio necesarios para realizar el proceso manualmente. Se describen técnicas y procedimientos para la síntesis en fase sólida en "Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach" por E. Atherton y R. C. Sheppard, publicado por IRL en Oxford University Press (1989) y "Methods in Molecular Biology, Vol. 35: Peptide Synthesis Protocols" (ed. M. W. Pennington y B. M. Dunn), capítulo 7, páginas 91-171 por D. Andreau y col.

Como alternativa, un polinucleótido que codifica un péptido de la invención puede introducirse en un vector de expresión que puede expresarse en un sistema de expresión adecuado usando técnicas bien conocidas en este campo, seguido de aislamiento o purificación del péptido, polipéptido o proteína de interés expresados. En la técnica están disponibles una diversidad de sistemas de expresión de bacterias, levaduras, plantas, mamíferos e insectos y puede usarse cualquiera de estos sistemas de expresión. Opcionalmente, un polinucleótido que codifica un péptido de la invención puede traducirse en un sistema de traducción sin células.

Los péptidos antigénicos de PCSK9 de la invención también pueden comprender los que se producen como resultado de la existencia de múltiples genes, acontecimientos de transcripción alternativos, acontecimientos de corte y empalme de ARN alternativos y acontecimientos de traducción y post-traduccionales alternativos. Un péptido puede expresarse en sistemas, por ejemplo células cultivadas, que producen sustancialmente las mismas modificaciones post-traduccionales presentes que cuando el péptido se expresa en una célula nativa, o en sistemas que tienen como resultado la alteración u omisión de modificaciones post-traduccionales, por ejemplo, glicosilación o escisión, presentes cuando se expresa en una célula nativa.

Un péptido antigénico de PCSK9 de la invención puede producirse como una proteína de fusión que contiene otras secuencias de aminoácidos que no son de PCSK9 o que no proceden de PCSK9, tales como engarces aminoacídicos o secuencia señal o vehículos inmunogénicos como se definen en el presente documento, así como ligandos útiles en la purificación de proteínas, tales como glutatión-S-transferasa, marcador de histidina y proteína A de estafilococos. En una proteína de fusión puede estar presente más de un péptido antigénico de PCSK9. El polipéptido heterólogo puede fusionarse, por ejemplo, con el extremo N o C del péptido de la invención. Un péptido de la invención también puede producirse como proteínas de fusión que comprenden secuencias de aminoácidos homólogos, es decir otras secuencias de PCSK9 o derivadas de PCSK9.

Los péptidos antigénicos de PCSK9 de la invención podrían ser lineales o estar limitados conformacionalmente. Como se usa en el presente documento cuando se hace referencia a un péptido, la expresión "limitado conformacionalmente" significa un péptido en el que la estructura tridimensional se mantiene sustancialmente en una disposición espacial a lo largo del tiempo. Las moléculas limitadas conformacionalmente pueden tener propiedades mejoradas tales como una mayor afinidad, estabilidad metabólica, permeabilidad de membrana o solubilidad.

Además, es de esperar que dichos péptidos limitados conformacionalmente presenten el epítipo antigénico de PCSK9 en una conformación similar a su conformación de bucle nativa, induciendo de esta manera anticuerpos anti-

PCSK9 más susceptibles al reconocimiento de moléculas propias de PCSK9 nativas intactas o con una mayor afinidad para reconocer moléculas de PCSK9 propias. En la técnica son bien conocidos procedimientos de limitación conformacional e incluyen, sin limitación, formación de puentes y ciclación.

Hay varias estrategias conocidas en la técnica anterior para introducir limitaciones conformacionales en un péptido lineal. Por ejemplo, la formación de puentes entre dos aminoácidos vecinos en un péptido conduce a una modificación de la conformación local, cuya flexibilidad está limitada en comparación con la de péptidos regulares. Algunas posibilidades para formar dichos puentes incluyen la incorporación de lactamas y piperazinonas (como revisión, véase Giannis y Kolter, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1993,32: 1244).

Como se usa en el presente documento cuando se hace referencia a un péptido, el término "cíclico" se refiere a una estructura que incluye un enlace intramolecular entre dos aminoácidos o análogos de aminoácidos no adyacentes. La ciclación puede realizarse por medio de un enlace covalente o no covalente. Los enlaces intramoleculares incluyen, pero sin limitación, enlaces de esqueleto con esqueleto, de cadena lateral con esqueleto, de cadena lateral con cadena lateral, de cadena lateral con grupo terminal, y de grupo terminal con grupo terminal. Los procedimientos de ciclación incluyen, sin limitación, la formación de un enlace amida entre el resto N terminal y el resto C terminal de un péptido, la formación de un enlace disulfuro entre las cadenas laterales de aminoácidos o análogos de aminoácidos no adyacentes; la formación del enlace amida entre las cadenas laterales de restos Lys u Asp/Glu; la formación del enlace éster entre restos de serina y restos de Asp/Glu; la formación de un enlace lactama, por ejemplo, entre un grupo de cadena lateral de un aminoácido o análogo del mismo y la amina N terminal del resto amino-terminal; y la formación de enlaces lisinonorleucina y ditirosina. También podrían usarse versiones de carbono de un enlace disulfuro, por ejemplo, un enlace etenilo o etilo, (*J. Peptide Sc.*, 2008, 14, 898-902) así como reacciones de alquilación con un reactivo electrófilo polisustituido de manera apropiada tal como un di-, tri- o tetrahaloalcano (*PNAS*, 2008, 105(40), 15293-15298; *ChemBioChem*, 2005, 6, 821-824). También pueden usarse diversos análogos de prolina modificados para incorporar limitaciones conformacionales en péptidos (Zhang y col., *J. Med Chem.*, 1996,39: 2738-2744; Pfeifer y Robinson, *Chem. Comm.*, 1998,1977-1978). Las químicas que pueden usarse para ciclar péptidos de la invención producen péptidos ciclados con un enlace que incluye, pero sin limitación los siguientes: enlaces de lactama, hidrazona, oxima, tiazolidina, tioéter o sulfonio.

Otra estrategia más en el diseño de péptidos limitados conformacionalmente, que se describe en el documento US10/114918, es unir una secuencia de aminoácidos corta de interés a un molde, para generar un péptido cíclico limitado. Dichos péptidos cíclicos no solo se estabilizan estructuralmente por sus moldes, y por lo tanto ofrecen conformaciones tridimensionales que pueden imitar epítopes conformacionales en proteínas nativas tales como en virus y parásitos o en proteínas propias (proteínas autólogas de mamífero tales como PCSK9), sino que también son más resistentes que los péptidos lineales a la degradación proteolítica en el suero. El documento US10/114918 desvela además la síntesis de péptidos entrecruzados limitados conformacionalmente por preparación de aminoácidos sintéticos para el acoplamiento del esqueleto a aminoácidos colocados de manera apropiada para estabilizar la estructura supersecundaria de péptidos. El entrecruzamiento puede conseguirse por acoplamiento de amida del grupo amino primario de un resto de (2S,3R)-3-aminoprolina protegido ortogonalmente a un grupo carboxilo de cadena lateral colocada convenientemente de glutamato. Esta estrategia se ha seguido en la preparación de repeticiones de tetrapéptidos limitadas conformacionalmente de la proteína CS en la que al menos una prolina se ha reemplazado por (2S,3R)-3-aminoprolina y, para introducir un grupo carboxilo de cadena lateral, se ha incorporado glutamato como sustituto de alanina.

Las estrategias de entrecruzamiento también incluyen la aplicación de la reacción de metátesis con cierre de anillo de Grubbs para formar péptidos "grapados" diseñados para imitar conformaciones alfa-helicoidales (*Angew. Int. Ed. Engl.*, 1998, 37, 3281; *JACS*, 2000, 122, 5891); uso de sacáridos polifuncionalizados; uso de un enlace de triptationina (*Chemistry Eu. J.*, 2008, 24, 3404-3409); uso de la reacción "clic" de azidas y alquinos que podrían incorporarse como restos aminoácidos de cadena lateral o localizarse dentro del esqueleto de la secuencia del péptido (*Drug Disc. Today*, 2003, 8(24), 1128-1137). También se conoce en la bibliografía que ciertos iones metálicos pueden estabilizar las conformaciones limitadas de péptidos lineales secuestrando restos específicos, por ejemplo histidina, que coordinan con cationes metálicos (*Angew. Int. Ed. Engl.*, 2003, 42, 421). De forma similar, puede usarse la funcionalización de una secuencia de péptido lineal con una funcionalidad de ácido y amina no natural, o una funcionalidad de poliamina y poliácido, para permitir el acceso a estructuras cicladas después de la activación y la formación de enlaces amida.

De acuerdo con otra realización, el péptido antigénico de PCSK9 está limitado conformacionalmente por formación de enlaces covalentes intramoleculares de dos aminoácidos no adyacentes del péptido antigénico de PCSK9 entre sí, por ejemplo, los aminoácidos N- y C- terminales. De acuerdo con otra realización, el péptido antigénico de PCSK9 de la invención está limitado conformacionalmente por unión covalente a una molécula de armazón. De acuerdo con otra realización adicional, el péptido antigénico de PCSK9 está limitado simplemente, por ejemplo acoplado a un extremo (C o N) o a través de otro aminoácido no localizado en ningún extremo, a la molécula de armazón. De acuerdo con otra realización, el péptido antigénico de PCSK9 está limitado doblemente, es decir acoplado tanto al extremo C como al extremo N en la molécula de armazón. De acuerdo con otra realización, el péptido antigénico está limitado por ciclación a través del efecto de molde de una unidad de Diprolina heteroquiral (D-Pro-L-Pro) (Spath y col., 1998, *Helvetica Chimica Acta* 81, p1726-1738).

El armazón (también denominado "plataforma") puede ser cualquier molécula que sea capaz de reducir, por formación de enlaces covalentes, el número de conformaciones que puede asumir el péptido antigénico de PCSK9. Los ejemplos de armazones que limitan la conformación incluyen proteínas y péptidos, por ejemplo, moléculas relacionadas con lipocalina tales como tiorredoxina y proteínas tipo tiorredoxina que contienen barriles beta,



nucleasas (por ejemplo RNasaA), proteasas (por ejemplo tripsina), inhibidores de proteasa (por ejemplo eglina C), anticuerpos o fragmentos estructuralmente rígidos de los mismos, proteínas fluorescentes tales como GFP o YFP, conotoxinas, regiones de bucle del dominio de fibronectina tipo III, CTL-A4 y partículas semejantes a virus (VLP).

5 Otras moléculas de plataforma adecuadas incluyen carbohidratos tales como sepharose. La plataforma puede ser una molécula lineal o circular, por ejemplo, cerrada para formar un bucle. La plataforma generalmente es heteróloga con respecto al péptido antigénico de PCSK9. Dichos péptidos limitados conformacionalmente unidos a una plataforma se consideran más resistentes a la degradación proteolítica que el péptido lineal.

De acuerdo con otra realización preferida, el amazón es un vehículo inmunogénico como se define en la presente solicitud. En otra realización adicional, el péptido antigénico de PCSK9 está limitado simplemente en el vehículo inmunogénico. En otra realización adicional, el péptido antigénico de PCSK9 está limitado doblemente en el vehículo inmunogénico. De esta manera, el péptido antigénico de PCSK9 forma una estructura de bucle limitada conformacionalmente que ha demostrado ser una estructura particularmente adecuada como molécula de reconocimiento intracelular

15 Los péptidos antigénicos de PCSK9 de la invención pueden modificarse para facilitar la conjugación a una plataforma, por ejemplo, por la adición de una cisteína terminal en uno o los dos extremos y/o por la adición de una secuencia de engarce, tal como una cabeza o cola de doble glicina más una cisteína terminal, un engarce que termina con un resto de lisina o cualquier otro engarce conocido por los expertos en la materia que realice dicha función. Más adelante se desvelan detalles de dichos engarces. También podría usarse la química bioortogonal (tal como la reacción clic descrita anteriormente) para acoplar la secuencia peptídica completa al vehículo, evitando de esta manera cualquier problema regioquímico y de quimioselectividad. Se sabe que los engarces rigidificados tales como el descrito en Jones y col. Angew. Chem. Int. Ed. 2002, 41:4241-4244 inducen una respuesta inmunológica mejorada y también podrían usarse. En otra realización adicional, el péptido antigénico de PCSK9 se une a un molde multivalente, que por sí mismo se acopla al vehículo, aumentando de esta manera la densidad del antígeno (véase más adelante). El molde multivalente podría ser un polímero u oligómero funcionalizado de manera apropiada tal como (pero sin limitación), oligoglutamato u oligoquitosano (véase la figura 19).

#### Vehículo Inmunogénico de la Invención

El péptido antigénico de PCSK9 de la invención está unido a una molécula de vehículo inmunogénico para formar inmunógenos para protocolos de vacunación, preferentemente en los que la molécula de vehículo no está relacionada con la molécula de PCSK9 nativa.

30 La expresión "vehículo inmunogénico" en el presente documento incluye los materiales que tienen la propiedad de inducir independientemente una respuesta inmunogénica en un animal huésped y que pueden acoplarse covalentemente a un péptido, polipéptido o proteína directamente por la formación de enlaces peptídicos o éster entre grupos carboxilo, amino o hidroxilo libres en el péptido, polipéptido o proteína y grupos correspondientes en el material de vehículo inmunogénico, o como alternativa por la formación de enlaces a través de un grupo de unión bifuncional convencional, o como una proteína de fusión.

Los tipos de vehículos usados en los inmunógenos de la presente invención se conocerán fácilmente por el experto en la materia. Son ejemplos de dichos vehículos inmunogénicos: albúminas de suero tales como albúmina de suero bovino (BSA); globulinas; tiroglobulinas; hemoglobinas; hemocianinas (particularmente hemocianina de lapa californiana [KLH]); polilisina; ácido poliglútamico; copolímeros de lisina-ácido glutámico; copolímeros que contienen lisina u ornitina; vehículos de liposoma; el derivado de proteína purificado de tuberculina (PPD); toxinas o toxoides bacterianos inactivados tales como toxina tetánica o diftérica (TT y DT) o fragmento C de TT, CRM197 (una variante no tóxica pero antigénicamente idéntica de la toxina diftérica), otros mutantes puntuales de DT tales como CRM176, CRM228, CRM 45 (Uchida y col. J. Biol. Chem. 218; 3838-3844, 1973); CRM 9, CRM 45, CRM102, CRM 103 y CRM107 y otras mutaciones descritas por Nicholls y Youle en Genetically Engineered Toxins, Ed: Frankel, Maecel Dekker Inc, 1992; delección o mutación de Glu-148 a Asp, Gln o Ser y/o de Ala 158 a Gly y otras mutaciones desveladas en los documentos US 4709017 o US 4950740; mutación de al menos uno o más restos Lys 516, Lys 526, Phe 530 y/o Lys 534 y otras mutaciones desveladas en los documentos US 5917017 o US 6455673; o fragmento descrito en el documento US 5843711, pneumolisina de pneumococo (Kuo y col. (1995) Infect Immun 63; 2706-13) incluyendo ply destoxicada de alguna forma, por ejemplo, dPLY-GMBS (documentos WO 04081515, PCT/EP2005/010258) o dPLY-formol, PhtX, incluyendo PhtA, PhtB, PhtD, PhtE (las secuencias de PhtA, PhtB, PhtD o PhtE se desvelan en los documentos WO 00/37105 o WO 00/39299) y fusiones de proteínas Pht, por ejemplo, fusiones PhtDE, fusiones PhtBE, Pht A-E (documentos WO 01/98334, WO 03/54007, WO2009/000826), OMPC (proteína de la membrana externa de meningococo —normalmente extraída a partir de *N. meningitidis* serogrupo B —documento EP0372501), PorB (de *N. meningitidis*), PD (proteína D de *Haemophilus influenzae* —véase, por ejemplo, el documento EP 0 594 610 B) o equivalentes inmunológicamente funcionales de las mismas, péptidos sintéticos (documentos EP0378881 y EP0427347), proteínas de golpe de calor (documentos WO 93/17712 y WO 94/03208), proteínas pertussis (documentos WO 98/58668 y EP0471 177), citocinas, linfocinas, factores de crecimiento u hormonas (documento WO 91/01146), proteínas artificiales que comprenden múltiples epitopes de células T CD4+ humanas de diversos antígenos derivados de patógenos (Falugi y col. (2001) Eur J Immunol 31; 3816-3824) tales como proteína N19 (Baraldoi y col. (2004) Infect Immun 72; 4884-7), proteína PspA de la superficie del pneumococo (documento WO 02/091998), proteínas de captación de hierro (documento WO 01/72337), toxina A o B de *C. difficile* (documento WO 00/61761).

En otra realización preferida, el vehículo inmunogénico de la invención es CRM197.

En otra realización, el vehículo inmunogénico es una partícula semejante a virus (VLP), preferentemente una partícula semejante a virus recombinante.

Como se usa en el presente documento, la expresión "partícula semejante a virus" se refiere a una estructura que se parece a una partícula viral pero que se ha demostrado que no es patógena. En general, las partículas semejantes a virus carecen de al menos parte del genoma viral. Además, las partículas semejantes a virus con frecuencia pueden producirse en grandes cantidades por expresión heteróloga y pueden purificarse fácilmente. Una partícula semejante a virus de acuerdo con la invención puede contener un ácido nucleico distinto de su genoma. Una realización típica y preferida de una partícula semejante a virus de acuerdo con la presente invención es una cápside viral tal como la cápside viral del virus correspondiente, bacteriófago o fago de ARN.

Como se usa en el presente documento, la expresión "partícula semejante a virus de un bacteriófago" se refiere a una partícula semejante a virus que se parece a la estructura de un bacteriófago, al ser no replicativa y no infecciosa, y que carece de al menos el gen o genes que codifican la maquinaria de replicación del bacteriófago, y típicamente que también carece del gen o genes que codifican la proteína o proteínas responsables de la unión viral a o la entrada en el huésped. Sin embargo, esta definición también debe incluir partículas semejantes a virus de bacteriófagos, en las que aún están presentes el gen o genes mencionados anteriormente pero son inactivos y, por lo tanto, también conducen a partículas semejantes a virus no replicativas y no infecciosas de un bacteriófago.

La estructura de la cápside formada a partir del auto-ensamblaje de 180 subunidades de proteína de la cubierta de fago de ARN y que opcionalmente contiene ARN del huésped se denomina en el presente documento "VLP de proteína de la cubierta de fago de ARN". Son ejemplos específicos la VLP de las proteínas de la cubierta de Qbeta, MS2, PP7 o AP205. En el caso específico de la proteína de la cubierta de Qbeta, por ejemplo, la VLP puede ensamblarse exclusivamente a partir de subunidades de CP de Qbeta (generadas por expresión de un gen de CP de Qbeta que contiene, por ejemplo, un codón de terminación TAA que impide cualquier expresión de la proteína A1 de mayor tamaño por medio de supresión, véase Kozlovskaya, T. M., y col. *Intervirology* 39: 9-15 (1996)), o además contiene subunidades de proteína A1 en el conjunto de la cápside. En general, el porcentaje de proteína A1 de Qbeta con respecto a CP de Qbeta en el conjunto de la cápside estará limitado para asegurar la formación de la cápside. Los ejemplos de VLP adecuadas como vehículos inmunogénicos en el contexto de la presente invención incluyen, pero sin limitación, VLP de Qbeta, MS2, PP7, AP205 y otras proteínas de la cubierta de bacteriófagos, las proteínas de la cápside y núcleo del virus de la hepatitis B (Ulrich, y col., *Virus Res.* 50: 141-182 (1998)), virus del sarampión (Warnes, y col., *Gene* 160: 173-178 (1995)), virus Sindbis, rotavirus (Patentes de Estados Unidos N° 5.071.651 y 5.374.426), virus de la fiebre aftosa (Twomey, y col., *Vaccine* 13: 1603-1610, (1995)), virus Norwalk (Jiang, X., y col., *Science* 250: 1580-1583 (1990); Matsui, S. M., y col., *J Clin. Invest.* 87: 1456-1461 (1991)), la proteína GAG retroviral (Solicitud de Patente PCT N° WO 96/30523), la proteína pl del retrotransposón Ty, la proteína de superficie del virus de la hepatitis B (documento WO 92/11291), el virus del papiloma humano (documento WO 98/15631), virus del polioma humano (Sasnauskas K., y col. *Biol. Chem.* 380 (3): 381-386 (1999); Sasnauskas K., y col., *Generation of recombinant virus-like particles of different polyomaviruses in yeast. 3rd International Workshop "Virus-like particles as vaccines"*. Berlín, 26-29 septiembre (2001)), fagos de ARN, Ty, fago fr, fago GA, fago AP 205 y, en particular, fago Qbeta, virus del moteado clorótico del caupí, virus del mosaico del caupí, virus del papiloma humano (HPV), virus del papiloma bovino, parvovirus porcino, parvovirus tales como B19, parvovirus porcino (PPV y canino (CPV)), calicivirus (por ejemplo, virus Norwalk, virus de la enfermedad hemorrágica del conejo [RHDV]), VLP de antígeno nuclear de hepadnavirus de animales, virus vegetales con forma filamentosa/varilla, incluyendo, pero sin limitación, el virus del mosaico del tabaco (TMV), virus X de la patata (PVX), virus del mosaico de la papaya (PapMV), Virus del Mosaico de la Alfalfa (AIMV) y Virus del Mosaico del Pasto Johnson (JGMV), virus de insectos tales como virus Flock House (FHV) y tetravirus, polioma virus tales como Papilomavirus Murino (MPyV), Virus Pneumotrópico Murino (MPtV), Virus BK (BKV) y virus JC (JCV).

Como será evidente fácilmente para los expertos en la materia, la VLP a usar como vehículo inmunogénico de la invención no se limita a ninguna forma específica. La partícula puede sintetizarse químicamente o por medio de un procedimiento biológico, que puede ser natural o no natural. A modo de ejemplo, este tipo de realización incluye una partícula semejante a virus o una forma recombinante de la misma. En otra realización más específica, la VLP puede comprender, o como alternativa estar constituida por, polipéptidos recombinantes de cualquiera de los virus que se sabe que forman una VLP. La partícula semejante a virus puede comprender además, o estar constituida alternativamente por, uno o más fragmentos de dichos polipéptidos, así como variantes de dichos polipéptidos. Las variantes de polipéptidos pueden compartir, por ejemplo, al menos un 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, o 99% de identidad a nivel de los aminoácidos con sus homólogos de tipo silvestre. Las VLP variantes adecuadas para uso en la presente invención pueden proceder de cualquier organismo siempre que puedan formar una "partícula semejante a virus" y puede usarse como "vehículo inmunogénico" como se define en el presente documento.

Las VLP preferidas de acuerdo con la invención incluyen la proteína de la cápside o antígeno de superficie de HBV (HBcAg y HBsAg, respectivamente) o proteínas recombinantes o fragmentos de las mismas, y las proteínas de la cubierta de fagos de ARN o proteínas recombinantes o fragmentos de las mismas, más preferentemente la proteína de la cubierta de Qbeta o proteínas recombinantes o fragmentos de la misma.

En otra realización, el vehículo inmunogénico usado en combinación con un péptido antigénico de PCSK9 de la invención es una proteína HBcAg. Los ejemplos de proteínas HBcAg que pueden usarse en el contexto de la presente invención pueden determinarse fácilmente por un experto en la materia. Los ejemplos incluyen, pero sin limitación, proteínas del núcleo de HBV descritas en Yuan y col., (*J. Virol.* 73: 10122-10128 (1999)) y en los documentos WO00/198333, WO 00/177158, WO 00/214478, WO WO00/32227, WO01/85208, WO02/056905, WO03/024480 y WO03/024481. Las HBcAg adecuadas para uso en la presente invención pueden proceder de cualquier organismo siempre y que puedan formar en una "partícula semejante a virus" y pueden usarse como un

“vehículo inmunogénico” como se define en el presente documento.

Son variantes de HBcAg de interés particular que podrían usarse en el contexto de la presente invención las variantes en las que uno o más restos de cisteína residentes de forma natural se han deletado o sustituido. Es bien conocido en la técnica que los restos de cisteína libres pueden estar implicados en varias reacciones químicas secundarias incluyendo intercambios disulfuro, reacción con sustancias químicas o metabolitos que, por ejemplo, se inyectan o se forman en una terapia combinada con otras sustancias, u oxidación directa y reacción con nucleótidos tras la exposición a luz UV. De esta manera podrían generarse aductos tóxicos, especialmente considerando el hecho de que las HBcAg tienen una fuerte tendencia a unirse a ácidos nucleicos. De esta manera los aductos tóxicos se distribuirían entre una multiplicidad de especies, que individualmente pueden estar presentes, cada una, a una baja concentración, pero alcanzan niveles tóxicos cuando están juntas. En vista de lo anterior, una ventaja del uso de HBcAg en composiciones de vacunas que se han modificado para retirar restos de cisteína residentes de forma natural es que los sitios a los que pueden unirse especies tóxicas cuando se unen antígenos o determinantes antigénicos estarían reducidos en número o se habrían eliminado del todo.

Además, la forma procesada de HBcAg que carece de la secuencia líder N-terminal de la proteína precursora del antígeno nuclear de la hepatitis B también puede usarse en el contexto de la invención, especialmente cuando la HBcAg se produce en condiciones en las que no se producirá el procesamiento (por ejemplo, expresión en sistemas bacterianos).

Otras variantes de HBcAg de acuerdo con la invención incluyen: i) secuencia polipeptídica que tiene una identidad de al menos un 80%, 85%, 90%, 95%, 97% o 99% con una de las secuencias de aminoácidos de HBcAg de tipo silvestre, o una subporción de la misma, usando programas informáticos conocidos convencionalmente, ii) mutantes de truncamiento C-terminal incluyendo mutantes en los que se han retirado 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 34 o 35 aminoácidos del extremo C, ii) mutantes de truncamiento N-terminal que incluyen mutantes en los que se han retirado 1, 2, 5, 7, 9, 10, 12, 14, 15 o 17 aminoácidos del extremo N, iii) mutantes truncados tanto en el extremo N-terminal como en el extremo C-terminal que incluyen HBcAg en las que se han retirado 1, 2, 5, 7, 9, 10, 12, 14, 15 o 17 aminoácidos del extremo N y se han retirado 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 34 o 35 aminoácidos del extremo C.

Otras proteínas variantes de HBcAg dentro del alcance de la invención son las variantes modificadas para mejorar la presentación inmunogénica de un epítipo extraño cuando se ha deletado una o más de las cuatro repeticiones de arginina, pero en la que se ha retenido la cisteína C-terminal (véase por ejemplo, el documento WO 01/98333), y la HBcAg truncada en el extremo C-terminal química, tales como las descritas en los documentos WO 02/14478, WO 03/102165 y WO 04/053091.

En otra realización, el vehículo inmunogénico usado en combinación con un péptido antigénico de PCSK9 de la invención es una proteína HBsAg. Las proteínas HBsAg que podrían usarse en el contexto de la presente invención pueden determinarse fácilmente por un experto en la materia. Los ejemplos incluyen, pero sin limitación, proteínas de la superficie de HBV descritas en los documentos US5792463, WO 02/10416 y WO 08/020331. Las HBsAg adecuadas para uso en la presente invención pueden proceder de cualquier organismo siempre que puedan formar una “partícula semejante a virus” y puedan usarse como un “vehículo inmunogénico” como se define en el presente documento.

En otra realización más, el vehículo inmunogénico usado en combinación con un polipéptido o péptido antigénico de PCSK9 de la invención es una proteína de la cubierta de Qbeta.

Se observó que la proteína de la cubierta de Qbeta se autoensambla en cápsides cuando se expresa en *E. coli* (Kozlovskaja TM. y col., GENE 137: 133-137 (1993)). Las cápsides obtenidas o partículas semejantes a virus mostraron una estructura de cápside de tipo fago icosaédrica con un diámetro de 25 nm y cuasi simetría T = 3. Además, se ha resuelto la estructura cristalina del fago Qss. La cápside contiene 180 copias de proteína de la cubierta, que están unidas en pentámeros y hexámeros covalentes por puentes disulfuro (Golmohammadi, R. y col., Structure 4: 5435554 (1996)), lo que conduce a una notable estabilidad de la cápside de la proteína de cubierta de Qbeta. La proteína de la cápside de Qbeta también muestra una resistencia poco habitual a disolventes orgánicos y agentes desnaturizantes. La alta estabilidad de la cápside de proteína de la cubierta de Qbeta es una característica ventajosa, en particular, para su uso en la inmunización y vacunación de mamíferos y seres humanos de acuerdo con la presente invención. Pueden determinarse fácilmente ejemplos de proteínas de la cubierta de Qbeta que pueden usarse en el contexto de la presente invención por un experto en la materia. Se han descrito ejemplos ampliamente en los documentos WO02/056905, WO03/024480, WO03/024481 e incluyen, pero sin limitación, secuencias de aminoácidos desveladas en la base de datos PIR, N° de acceso VCBPQbeta que se refiere a CP de Qbeta; N° de acceso AAA16663 que se refiere a la proteínas AI de Qbeta, y variantes de las mismas que incluyen proteínas variantes en las que se escinde la metionina N-terminal; formas truncadas C-terminales de A1 de Qbeta que carecen de hasta 100, 150 o 180 aminoácidos; proteínas variantes que se han modificado por la eliminación de un resto de lisina por delección o sustitución o por la adición de un resto de lisina por sustitución o inserción (véase, por ejemplo Qbeta-240, Qbeta-243, Qbeta -250, Qbeta-251 y Qbeta-259 desveladas en el documento WO03/024481) y variantes que presentan una identidad de al menos el 80%, 85%, 90%, 95%, 97% o 99% con cualquiera de las proteínas de cubierta de Qbeta descritas anteriormente. Las proteínas de cubierta de Qbeta variantes adecuadas para uso en la presente invención pueden proceder de cualquier organismo siempre que puedan formar una “partícula semejante a virus” y puedan usarse como “vehículos inmunogénicos” como se define en la presente invención.

Los péptidos antigénicos de PCSK9 de la invención pueden acoplarse a vehículos inmunogénicos por conjugación química o por expresión de compañeros de fusión obtenidos por ingeniería genética. El acoplamiento no tiene que ser directo necesariamente, sino que puede producirse a través de secuencias de engarce. Más generalmente, en el

caso de que los péptidos antigénicos estén fusionados, conjugados o unidos de otra manera a un vehículo inmunogénico, típicamente se añaden secuencias espaciadoras o de engarce en uno o los dos extremos de los péptidos antigénicos. Estas secuencias de engarce comprenden generalmente secuencias reconocidas por el proteasoma, proteasas de los endosomas u otro compartimiento vesicular de la célula.

- 5 En otra realización, los péptidos de la presente invención se expresan como proteínas de fusión con el vehículo inmunogénico. La fusión del péptido puede realizarse por inserción en la secuencia primaria del vehículo inmunogénico o por fusión con el extremo N o C del vehículo inmunogénico. En lo sucesivo, cuando se hace referencia a proteínas de fusión de un péptido a un vehículo inmunogénico, se incluye la fusión a cualquier extremo de la secuencia de subunidad o la inserción interna del péptido dentro de la secuencia del vehículo. La fusión, como se menciona más adelante en este documento, puede realizarse por inserción del péptido antigénico en la secuencia del vehículo, por sustitución de parte de la secuencia del vehículo con el péptido antigénico, o por una combinación de delección, sustitución o inserciones.

15 Cuando el vehículo inmunogénico es una VLP, la subunidad quimérica de péptido antigénico-VLP, en general, será capaz de autoensamblarse en una VLP. Las VLP que presentan epítopes fusionados a sus subunidades también se denominan en el presente documento VLP quiméricas. Por ejemplo, el documento EP 0 421 635 B describe el uso de partículas de antígeno de núcleo de hepadnavirus quiméricas para presentar secuencias peptídicas extrañas en una partícula semejante a virus.

20 Pueden añadirse restos aminoácidos flanqueantes en cualquier extremo de la secuencia del péptido antigénico para fusionarse a cualquier extremo de la secuencia de la subunidad de una VLP, o para la inserción interna de dicha secuencia peptídica en la secuencia de la subunidad de una VLP. Los restos de glicina y serina son aminoácidos particularmente preferidos para el uso en las secuencias flanqueantes añadidas al péptido a fusionar. Los restos de glicina confieren flexibilidad adicional, que puede disminuir el efecto potencialmente desestabilizador de la fusión de una secuencia extraña a la secuencia de una subunidad de VLP.

25 En otra realización específica de la invención, el vehículo inmunogénico es una VLP de HBcAg. Se han descrito proteínas de fusión del péptido antigénico al extremo N de una HBcAg (Neyrinck, S. y col. *Nature Med.* 5: 1157-1163 (1999)) o inserciones en la denominada región inmunodominante principal (MIR) (Pumpens, P. y Grens, E., *Intervirology* 44: 98-114 (2001)), documento WO 01/98333), y son realizaciones específicas de la invención. También se han descrito variantes naturales de HBcAg con delecciones en el MIR (Pumpens, P. y Grens, E., *Intervirology* 44: 98-114 (2001)) y las fusiones con el extremo N o C, así como las inserciones en la posición del MIR que corresponde al sitio de delección en comparación con una HBcAg de tipo silvestre, son realizaciones adicionales de la invención. También se han descrito fusiones con el extremo C (Pumpens, P. y Grens, E., *Intervirology* 44: 98-114 (2001)). Un experto en la materia encontrará fácilmente pautas sobre cómo construir proteínas de fusión usando técnicas clásicas de biología molecular. Se han descrito vectores y plásmidos que codifican HBcAg y proteínas de fusión de HBcAg y útiles para la expresión de una HBcAg y proteínas de fusión de HBcAg (Pumpens, P. and #38; Grens, E. *Intervirology* 44: 98-114 (2001), Neyrinck, S. y col. *Nature Med.* 5: 1157-1163 (1999)) y pueden usarse en la práctica de la invención. Un factor importante para la optimización de la eficacia del autoensamblaje y de la presentación del epítope a insertar en el MIR de HBcAg es la elección del sitio de inserción, así como el número de aminoácidos a deleccionar de la secuencia de HBcAg dentro del MIR (Pumpens, P. y Grens, E., *Intervirology* 44: 98-114 (2001); documento EP 0421635; Patente de Estados Unidos N° 6.231.864) después de la inserción, o en otras palabras, los aminoácidos que forman HBcAg que se van a sustituir con el nuevo epítope. Por ejemplo, se ha descrito la sustitución de los aminoácidos 76-80, 79-81, 79-80, 75-85 u 80-81 de HBcAg con epítopes extraños (Pumpens, P. y Grens, E., *Intervirology* 44: 98-114 (2001); documentos EP0421635; US 6.231.864, WO00/26385). HBcAg contiene una cola de arginina larga (Pumpens, P. y Grens, E., *Intervirology* 44: 98-114 (2001)), que es dispensable para el ensamblaje de la cápside y capaz de unirse a ácidos nucleicos (Pumpens, P. y Grens, E., *Intervirology* 44: 98-114 (2001)). Son realizaciones de la invención tanto HBcAg que comprende como HbcAg que carece de esta cola de arginina.

35 En otra realización específica de la invención, el vehículo inmunogénico es una VLP de un fago de ARN, preferentemente Qbeta. Las proteínas de la cubierta principales de los fagos de ARN se ensamblan espontáneamente en VLP tras la expresión en bacterias, y en particular en *E. coli*. Se han descrito construcciones de proteínas de fusión en las que se han fusionado péptidos antigénicos al extremo C de una forma truncada de la proteína A1 de Qbeta, o se han insertado dentro de la proteína A1 (Kozlovska, T. M., y col. *Intervirology*, 39: 9-15 (1996)). La proteína A1 se genera por supresión en el codón de terminación UGA y tiene una longitud de 329 aa o 328 aa, si se tiene en cuenta la escisión de la metionina N-terminal. La escisión de la metionina N-terminal antes de una alanina (el segundo aminoácido codificado por el gen CP de Qbeta) normalmente tiene lugar en *E. coli*, y este es el caso del extremo N de las proteínas de la cubierta de Qbeta. La parte del gen de A1, 3' del codón ámbar UGA codifica la extensión de CP, que tiene una longitud de 195 aminoácidos. La inserción del péptido antigénico entre la posición 72 y 73 de la extensión CP conduce a realizaciones adicionales de la invención (Kozlovska, T. M., y col. *Intervirology* 39: 9-15 (1996)). La fusión de un péptido antigénico en el extremo C de una proteína A1 de Qbeta truncada en el extremo C-terminal conduce a realizaciones preferidas adicionales de la invención. Por ejemplo, Kozlovska y col., (*Intervirology*, 39: 9-15 (1996)) describe fusiones de proteínas A1 de Qbeta en las que el epítope está fusionado al extremo C de la extensión CP de Qbeta truncada en la posición 19.

60 Como se describe por Kozlovska y col. (*Intervirology*, 39: 9-15 (1996)), el ensamblaje de las partículas que presentan los epítopes fusionados típicamente requiere la presencia de tanto la fusión de proteína A1-antígeno como

la CP de tipo silvestre para formar una partícula de mosaico. Sin embargo, también están dentro del alcance de la presente invención realizaciones que comprenden partículas semejantes a virus, y por la presente en particular las VLP de la proteína de la cubierta del fago de ARN Qbeta, que están compuestas exclusivamente por subunidades de VLP que tienen un péptido antigénico fusionado a las mismas.

5 La producción de partículas de mosaico puede realizarse de varias formas. Kozlovskaya y col. *Intervirology*, 39: 9-15 (1996), describen tres procedimientos, pudiendo usarse todos ellos en la práctica de la invención. En la primera estrategia, la presentación eficaz del epítipo fusionado en las VLP está mediada por la expresión del plásmido que codifica la fusión de proteína A1 de Qbeta que tiene un codón de terminación UGA entre CP y la extensión de CP en una cepa de *E. coli* que lleva un plásmido que codifica un ARNt supresor de UGA clonado que conduce a la traducción del codón UGA en Trp (plásmido pISM3001 (Smiley B. K., y col., *Gene* 134: 33-40 (1993))). En otra estrategia, el codón de terminación del gen CP se modifica a UAA, y se cotransforma un segundo plásmido que expresa la fusión de proteína A1-antígeno. El segundo plásmido codifica una resistencia a antibiótico diferente y el origen de replicación es compatible con el primer plásmido. En una tercera estrategia, CP y la fusión de proteína A1-antígeno están codificadas de una manera bicistrónica, unidas operativamente a un promotor tal como el promotor de Trp, como se describe en la Figura 1 de Kozlovskaya y col. *Intervirology*, 39: 9-15 (1996).

10 En el documento WO03/024481 se describen VLP adicionales adecuadas para la fusión de antígenos o determinantes antigénicos e incluyen el bacteriófago fr, ARN de fase MS-2, proteína de la cápside de papilomavirus, retrotransposón Ty, levadura y también partículas semejantes a retrovirus, Gag de VIH2, el virus del mosaico del caupí, VLP de parvovirus VP2, HBsAg (documentos USA 4.722.840 y EP0020416B1). Los ejemplos de VLP quiméricas adecuadas para la práctica de la invención también son los descritos en *Intervirology* 39: 1 (1996). Otros ejemplos de VLP contempladas para uso en la invención son: HPV-1, el HPV-6, HPV-11, HPV-16, HPV-18, HPV-33, HPV-45, CRPV, COPV, VIH GAG, virus del mosaico del tabaco, partículas semejantes a virus de SV-40, poliomavirus, adenovirus, virus del herpes simple, rotavirus y virus Norwalk.

25 Para cualquier péptido antigénico de PCSK9 expresado de forma recombinante de acuerdo con la invención acoplado o no con un vehículo inmunogénico, el ácido nucleico que codifica dicho péptido o proteína también constituye un aspecto de la presente invención, como lo hace un vector de expresión que comprende el ácido nucleico, y una célula huésped que contiene el vector de expresión (insertado de forma autónoma o cromosómica). Un aspecto adicional de la invención es un procedimiento para producir de forma recombinante el péptido o proteína por medio de su expresión en la célula huésped anterior y el aislamiento del inmunógeno a partir de la misma. La molécula de PCSK9 nativa de longitud completa o la secuencia de ADN nativa de longitud completa que la codifica no se incluyen en la presente invención.

30 En otra realización, el péptido de la invención se acopla químicamente a un vehículo inmunogénico, usando técnicas bien conocidas en este campo. La conjugación puede realizarse para permitir el movimiento libre de los péptidos por conjugación en un solo punto (por ejemplo, en el punto N-terminal o C-terminal) o como una estructura cerrada en la que los dos extremos de los péptidos se conjugan con una proteína de vehículo inmunogénico o con una estructura de armazón tal como una VLP. La conjugación tiene lugar por la química de conjugación conocida por los expertos en la materia tal como a través de restos de cisteína, restos de lisina u otros restos carboxi conocidos comúnmente como puntos de conjugación tales como ácido glutámico o ácido aspártico. De esta manera, por ejemplo, para el acoplamiento covalente directo, es posible utilizar una carbodiimida, glutaraldehído o éster de (N-[ $\gamma$ -maleimidobutiriloxi]succinimida, utilizando engarces heterobifuncionales comunes disponibles en el mercado tales como CDAP y SPDP (usando instrucciones de los fabricantes). En el documento WO 03/092714 se describen ejemplos de conjugación de péptidos, particularmente péptidos ciclados, con un vehículo proteico a través de derivados peptídicos de acilhidrazina. Después de la reacción de acoplamiento, el inmunógeno puede aislarse y purificarse fácilmente por medio de un procedimiento de diálisis, un procedimiento de exclusión molecular, un procedimiento de fraccionamiento, etc. Los péptidos que terminan con un resto de cisteína (preferentemente con un engarce fuera de la región ciclada) pueden conjugarse convenientemente con una proteína de soporte a través de la química de maleimida.

35 Cuando el vehículo inmunogénico es una VLP, varios péptidos antigénicos que tienen una secuencia de aminoácidos idéntica o una secuencia de aminoácidos diferente, pueden acoplarse a una sola molécula de VLP, conduciendo preferentemente a una estructura repetitiva y ordenada que presenta varios determinantes antigénicos de una manera orientada como se describe en los documentos WO 00/32227, WO 03/024481, WO 02/056905 y WO 04/007538.

40 En otra realización preferida, el péptido antigénico de PCSK9 se une a la VLP por medio de entrecruzamiento químico, típicamente y preferentemente por medio del uso de un agente de entrecruzamiento heterobifuncional. En la técnica se conocen varios agentes de entrecruzamiento heterobifuncionales. En algunas realizaciones, el agente de entrecruzamiento heterobifuncional contiene un grupo funcional que puede reaccionar con primeros sitios de unión, es decir, con el grupo amino de la cadena lateral de restos de lisina de la VLP o subunidad de VLP, y un grupo funcional adicional que puede reaccionar con un segundo sitio de unión preferido, es decir, un resto de cisteína fusionado al péptido antigénico y que opcionalmente también se ha hecho disponible para la reacción por reducción. La primera etapa del procedimiento, denominada típicamente derivatización, es la reacción de la VLP con el agente de entrecruzamiento. El producto de esta reacción es una VLP activada, también denominada vehículo activado. En la segunda etapa, el agente de entrecruzamiento que no ha reaccionado se retira usando procedimientos habituales tales como exclusión molecular o diálisis. En la tercera etapa, el péptido antigénico se

hace reaccionar con la VLP activada y esta etapa típicamente se denomina etapa de acoplamiento. El péptido antigénico que no ha reaccionado puede retirarse opcionalmente en una cuarta etapa, por ejemplo por diálisis. En la técnica se conocen varios agentes de entrecruzamiento heterobifuncionales. Estos incluyen los agentes de entrecruzamiento preferidos SMPH (Pierce), Sulfo-MBS, Sulfo-EMCS, Sulfo-GMBS, Sulfo-SIAB, Sulfo-SMPB, Sulfo-SMCC, SVSB, SIA y otros agentes de entrecruzamiento disponibles, por ejemplo, en la Pierce Chemical Company (Rockford, IL, Estados Unidos) y que tienen un grupo funcional reactivo con grupos amino y un grupo funcional reactivo con restos de cisteína. Todos los agentes de entrecruzamiento mencionados anteriormente conducen a la formación de un enlace tioéter.

Otra clase de agentes de entrecruzamiento adecuados en la práctica de la invención se caracteriza por la introducción de un enlace disulfuro entre el péptido antigénico y la VLP después del acoplamiento. Los agentes de entrecruzamiento preferidos que pertenecen a esta clase incluyen, por ejemplo, SPDP y Sulfo-LC-SPDP (Pierce). El grado de derivatización de la VLP con el agente de entrecruzamiento puede influenciarse variando condiciones experimentales tales como la concentración de cada uno de los compañeros de reacción, el exceso de un reactivo con respecto al otro, el pH, la temperatura y la fuerza iónica. El grado de acoplamiento, es decir la cantidad de péptido antigénico por subunidades de la VLP, puede ajustarse variando las condiciones experimentales descritas anteriormente para que correspondan con los requisitos de la vacuna.

Otro procedimiento para unir péptidos antigénicos a la VLP es la unión de un resto de lisina en la superficie de la VLP con un resto de cisteína en el péptido antigénico. En algunas realizaciones, puede requerirse la fusión de un engarce aminoacídico que contiene un resto de cisteína como segundo sitio de unión, o como parte del mismo, al péptido antigénico para el acoplamiento a la VLP. En general, se prefieren engarces aminoacídicos flexibles. Se seleccionan ejemplos del engarce aminoacídico del grupo constituido por: (a) CGG; (b) engarce gamma 1 N-terminal; (c) engarce gamma 3 N-terminal; (d) regiones de bisagra de Ig; (e) engarces de glicina N-terminal; (f) (G) kC (G) n con n = 0-12 y k = 0-5; (g) engarces de glicina-serina N-terminales; (h) (G) kC (G) m (S) i (GGGGS) n con n = 0-3, k = 0-5, m = 0-10 e i = 0-2; (i) GGC; (k) GGC-NH<sub>2</sub>; (l) engarce gamma 1 C-terminal; (m) engarce gamma 3 C-terminal; (n) engarces de glicina C-terminales; (o) (G) nC (G) k con n = 0-12 y k = 0-5; (p) engarces de glicina-serina C-terminales; (q) (G) m (S) t (GGGGS) n (G) oC (G) k con n = 0-3, k = 0-5, m = 0-10, l = 0-2 y o = 0-8. Otros ejemplos de engarces aminoacídicos son la región de bisagra de inmunoglobulinas, engarces de glicina-serina (GGGGS) n y engarces de glicina (G) n, conteniendo todos además un resto de cisteína como segundo sitio de unión y, opcionalmente, restos de glicina adicionales. Son ejemplos típicamente preferidos de dichos engarces aminoacídicos gamma 1 N-terminal: CGDKTHTSPP; gamma 1 C-terminal: DKTHTSPPCG; gamma 3 N-terminal: CGGPKPSTPPGSSGGAP; gamma 3 C-terminal: PKPSTPPGSSGGAPGGCG; engarce de glicina N-terminal: GCGGGG y engarce de glicina C-terminal: GGGGCG.

Otros engarces aminoacídicos particularmente adecuados en la práctica de la invención, cuando un péptido antigénico hidrófobo se une a una VLP, son CGKKGG o CGDEGG en el caso de los engarces N-terminales, o GGKKGC y GGEDGC, en el caso de los engarces C-terminales. Para los engarces C-terminales, la cisteína terminal está amidada opcionalmente en el extremo C-terminal.

En algunas realizaciones de la presente invención, se prefieren como engarces aminoacídicos GGCG, GGC o GGC-NH<sub>2</sub> ("NH<sub>2</sub>" representa la amidación) en el extremo C del péptido o CGG en su extremo N. En general, se insertarán restos de glicina entre aminoácidos voluminosos y la cisteína a usar como segundo sitio de unión, para evitar el posible impedimento estérico del aminoácido más voluminoso en la reacción de acoplamiento. En otra realización adicional de la invención, el engarce aminoacídico GGC-NH<sub>2</sub> se fusiona al extremo C del péptido antigénico.

El resto de cisteína presente en el péptido antigénico tiene que estar en su estado reducido para reaccionar con el agente de entrecruzamiento heterobifuncional en la VLP activada, es decir, tiene que estar disponible una cisteína libre o un resto de cisteína con un grupo sulfhidrilo libre. En el caso en el que el resto de cisteína para funcionar como sitio de unión está en una forma oxidada, por ejemplo si está formando un puente disulfuro, se requiere la reducción de este puente disulfuro, por ejemplo, con DTT, TCEP o p-mercaptoetanol. Las bajas concentraciones de agente reductor son compatibles con el acoplamiento como se describe en el documento WO 02/05690, concentraciones mayores inhiben la reacción de acoplamiento, como sabrá un experto en la materia, en cuyo caso tiene que retirarse el reductor o reducirse su concentración antes del acoplamiento, por ejemplo, por diálisis, exclusión molecular o HPLC de fase inversa.

La unión del péptido antigénico a la VLP usando un agente de entrecruzamiento heterobifuncional de acuerdo con los procedimientos descritos anteriormente permite el acoplamiento del péptido antigénico a la VLP de una forma orientada. Otros procedimientos para unir el péptido antigénico a la VLP incluyen procedimientos en los que el péptido antigénico se entrecruza con la VLP usando la carbodiimida EDC y NHS.

En otros procedimientos, el péptido antigénico se une a la VLP usando un agente de entrecruzamiento homobifuncional tal como glutaraldehído, DSGBM [PEO] 4, BS3, (Pierce Chemical Company, Rockford, IL, Estados Unidos) u otros agentes de entrecruzamiento homobifuncionales conocidos con grupos funcionales reactivos con grupos amina o grupos carboxilo de la VLP.

Otros procedimientos de unión de la VLP a un péptido antigénico incluyen procedimientos en los que la VLP está biotinilada, y el péptido antigénico se expresa como una proteína de fusión con estreptavidina, o procedimientos en los que están biotinilados tanto el péptido antigénico como la VLP, por ejemplo, como se describe en el documento WO 00/23955. En este caso, el péptido antigénico puede unirse primero a estreptavidina o avidina ajustando la relación de péptido antigénico con respecto a estreptavidina de tal forma que aún se disponga de sitios de unión libres para la unión de la VLP, que se añade en la siguiente etapa. Como alternativa, todos los componentes pueden mezclarse en una reacción de "una etapa". Pueden usarse otros pares de ligando-receptor, en los que se dispone de

una forma soluble del receptor y del ligando, y son capaces de reticularse con la VLP o el péptido antigénico, como agentes de unión para la unión del péptido antigénico a la VLP. Como alternativa, el ligando o el receptor pueden fusionarse al péptido antigénico y de esta manera mediar la unión a la VLP unida químicamente o fusionada al receptor o al ligando respectivamente. La fusión también puede realizarse por inserción o sustitución.

5 Una o varias moléculas de antígeno pueden unirse a una subunidad de la cápside o VLP de proteínas de cubiertas de fagos de ARN, preferentemente a través de los restos de lisina expuestos de la VLP de fagos de ARN, si es posible estéricamente. De esta manera, una característica específica de la VLP de la proteína de la cubierta de fagos de ARN y, en particular, de la VLP de la proteína de la cubierta de QP es la posibilidad de acoplar varios antígenos por subunidad. Esto permite la generación de una serie de antígenos densos.

10 Las VLP o cápsides de la proteína de la cubierta de Q presentan un número definido de restos de lisina en su superficie, con una topología definida, dirigiéndose tres restos de lisina hacia el interior de la cápside e interaccionando con el ARN, y estando expuestos otros cuatro restos de lisina hacia el exterior de la cápside. Estas propiedades definidas favorecen la unión de antígenos al exterior de la partícula, en lugar de al interior de la partícula, en la que los restos de lisina interaccionan con ARN. Las VLP de otras proteínas de la cubierta de fagos de ARN también tienen un número definido de restos de lisina en su superficie y una topología definida de estos restos de lisina.

15 En otra realización adicional de la presente invención, el primer sitio de unión es un resto de lisina y/o el segundo sitio de unión comprende un grupo sulfhidrilo o un resto de cisteína. En otra realización adicional de la presente invención, el primer sitio de unión es un resto de lisina y el segundo sitio de unión es un resto de cisteína. En otras realizaciones de la invención, el antígeno o determinante antigénico se une a través de un resto de cisteína a restos de lisina de la VLP de la proteína de la cubierta del fago de ARN, y en particular a la VLP de la proteína de la cubierta de Qbeta.

20 Otra ventaja de las VLP derivadas de fagos de ARN es su alta producción de expresión en bacterias que permite la producción de grandes cantidades de material a un coste razonable. Además, el uso de las VLP como vehículos permite la formación de series de antígenos sólidas y conjugadas, respectivamente, con una densidad variable de antígenos. En particular, el uso de VLP de fagos de ARN, y por la presente en particular el uso de la VLP de la proteína de la cubierta del fago de ARN Qbeta permite conseguir una densidad de epítopes muy alta.

25 De acuerdo con otra realización de la presente invención, el péptido antigénico de PCSK9 desvelado en el presente documento se une, preferentemente se entrecruza químicamente, con CRM197, directa o indirectamente o a través de uno de los engarces peptídicos desvelados en el presente documento, para generar un inmunógeno. En otra realización, el péptido antigénico de PCSK9 desvelado en el presente documento se une a CRM197, por medio de entrecruzamiento químico, como se describe en el presente documento, y preferentemente usando un agente de entrecruzamiento heterobifuncional, como se ha descrito anteriormente.

30 Los agentes de entrecruzamiento heterobifuncionales preferidos para uso con CRM197 son BAANS (éster de N-hidroxisuccinimida del ácido bromoacético), SMPH (Succinimidil-6-[β-maleimidopropionamido]hexanoato), Sulfo-MBS, Sulfo-EMCS, Sulfo-GMBS, Sulfo-SIAB, Sulfo-SMPB, Sulfo-SMCC, SVSB, SIA y otros agentes de entrecruzamiento disponibles, por ejemplo, en la Pierce Chemical Company (Rockford, IL, Estados Unidos). En otra realización preferida de la presente invención, el agente de entrecruzamiento heterobifuncional es BAANS o SMPH.

35 Como alternativa, también podrían usarse en el contexto de la invención agentes de entrecruzamiento adecuados que permiten la introducción de un enlace disulfuro entre el péptido antigénico y CRM197. Los agentes de entrecruzamiento preferidos que pertenecen a esta clase incluyen, por ejemplo, SPDP y Sulfo-LC-SPDP (Pierce).

40 En otra realización particular, cuando la secuencia del péptido antigénico de PCSK9 descrito en el presente documento comprende una cisteína, dicho péptido antigénico de PCSK9 puede unirse covalentemente a CRM197 directamente a través de dicha cisteína.

45 En algunas realizaciones de la invención, las composiciones inmunogénicas de la invención pueden comprender mezclas de conjugados inmunogénicos, es decir, vehículos inmunogénicos acoplados a uno o varios péptidos antigénicos de PCSK9 de la invención. De esta manera, estas composiciones inmunogénicas pueden estar compuestas por vehículos inmunogénicos que difieren en la secuencia de aminoácidos. Por ejemplo, podrían prepararse composiciones de vacuna que comprende una VLP de "tipo silvestre" y una proteína VLP modificada en la que se han alterado (por ejemplo delecionado, insertado o sustituido) uno o más restos aminoácidos. Como alternativa, podría usarse el mismo vehículo inmunogénico pero acoplado a péptidos antigénicos de PCSK9 de diferentes secuencias de aminoácidos.

50 Por lo tanto, la invención también se refiere a un procedimiento para producir un inmunógeno de acuerdo con la invención que comprende i) proporcionar un péptido antigénico de PCSK9 de acuerdo con la invención, ii) proporcionar un vehículo inmunogénico de acuerdo con la invención, preferentemente una VLP, y iii) combinar dicho péptido antigénico de PCSK9 y dicho vehículo inmunogénico. En otra realización, dicha etapa de combinación se produce a través de entrecruzamiento químico, preferentemente a través de un agente de entrecruzamiento heterobifuncional.

55 En la presente invención, el péptido antigénico de PCSK9 de la invención está unido a una molécula de vehículo inmunogénico. En otra realización, dicho vehículo inmunogénico se selecciona entre el grupo constituido por cualquiera de los vehículos inmunogénicos descritos en el presente documento. En otra realización, dicho vehículo inmunogénico se selecciona entre el grupo constituido por: albúminas de suero tales como albúmina de suero bovino

(BSA); globulinas; tiroglobulinas; hemoglobinas; hemocianinas (particularmente Hemocianina de Lapa Californiana [KLH]) y partículas semejantes a virus (VLP). En otra realización preferida, dicho vehículo inmunogénico es Toxoide Diftérico, mutante CRM197 de la toxina diftérica, Toxoide Tetánico, Hemocianina de Lapa Californiana o partículas semejantes a virus (VLP). En otra realización preferida, dicho vehículo inmunogénico es DT, CRM197 o una VLP seleccionada entre el grupo constituido por VLP de HBcAg, VLP de HBsAg, VLP de Qbeta, VLP de PP7, VLP de PPV, VLP del Virus Norwalk o cualquier variante desvelada en el presente documento. En otra realización preferida, dicho vehículo inmunogénico es una VLP de bacteriófago, tal como VLP de Qbeta, seleccionada entre el grupo constituido por CP de Qbeta; A1 de Qbeta, Qbeta-240, Qbeta-243, Qbeta-250, Qbeta-251 y Qbeta-259 (desvelados en el documento WO 03/024481) o PP7.

En otra realización preferida, dicho vehículo inmunogénico es CRM197.

En otra realización, dicho vehículo inmunogénico está unido covalentemente al péptido antigénico de PCSK9 desvelado en el presente documento directamente o a través de un engarce. En otra realización, dicho vehículo inmunogénico está unido al péptido antigénico de PCSK9 desvelado en el presente documento por expresión de una proteína de fusión como se describe en el presente documento. En otra realización, el péptido antigénico de PCSK9 desvelado en el presente documento está unido al vehículo inmunogénico, preferentemente una VLP, por medio de entrecruzamiento químico, como se describe en el presente documento y preferentemente usando un agente de entrecruzamiento heterobifuncional. En la técnica se conocen varios agentes de entrecruzamiento heterobifuncionales. En algunas realizaciones, el agente de entrecruzamiento heterobifuncional contiene un grupo funcional que puede reaccionar con primeros sitios de unión, es decir, con el grupo amino de la cadena lateral de restos de lisina de la VLP o subunidad de VLP, y un grupo funcional adicional que puede reaccionar con un segundo sitio de unión preferido, es decir, un resto de cisteína fusionado al péptido antigénico que se ha hecho disponible para la reacción por reducción.

#### Péptido Antigénico de PCSK9 de la invención que comprende un engarce

En otra realización de la presente divulgación el péptido antigénico de PCSK9 desvelado en el presente documento comprende además en su extremo N, en su extremo C o tanto en el extremo N como en el extremo C un engarce que puede reaccionar con un sitio de unión del vehículo inmunogénico en una reacción de entrecruzamiento químico. En otra realización, el péptido antigénico de PCSK9 desvelado en el presente documento comprende además en su extremo C un engarce que tiene la fórmula  $(G)_nC$ ,  $(G)_nSC$  o  $(G)_nK$ , preferentemente  $(G)_nC$ , en la que n es un número entero elegido del grupo constituido por 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10, preferentemente del grupo constituido por 0, 1, 2, 3, 4 y 5, más preferentemente de los grupos constituidos por 0, 1, 2 y 3, aún más preferentemente n es 0 o 1 (cuando n es igual a 0 dicha fórmula representa una cisteína). Preferentemente, el péptido antigénico de PCSK9 desvelado en el presente documento comprende además en su extremo C un engarce que tiene la fórmula GGGC, GGC, GC o C.

En otra realización de la presente divulgación, el péptido antigénico de PCSK9 desvelado en el presente documento comprende además en su extremo N un engarce que tiene la fórmula  $C(G)_n$ ,  $CS(G)_n$  o  $K(G)_n$ , preferentemente  $C(G)_n$ , en la que n es un número entero elegido del grupo constituido por 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10, preferentemente del grupo constituido por 0, 1, 2, 3, 4 y 5, más preferentemente de los grupos constituidos por 0, 1, 2 y 3, y aún más preferentemente n es 0 o 1 (cuando n es igual a 0, la fórmula representa una cisteína). Preferentemente, el péptido antigénico de PCSK9 desvelado en el presente documento comprende además en su extremo N un engarce que tiene la fórmula CGGG, CGG, CG o C.

En otra realización de la invención, el péptido antigénico de PCSK9 desvelado en el presente documento comprende además en su extremo C un engarce que tiene la fórmula  $(G)_nC$ ,  $(G)_nSC$  o  $(G)_nK$ , preferentemente  $(G)_nC$ , en la que n es un número entero elegido del grupo constituido por 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10, preferentemente del grupo constituido por 0, 1, 2, 3, 4 y 5, más preferentemente de los grupos constituidos por 0, 1, 2 y 3, aún más preferentemente n es 0 o 1 (cuando n es igual a 0, dicha fórmula representa una cisteína) y en su extremo N un engarce que tiene la fórmula  $C(G)_n$ ,  $CS(G)_n$  o  $K(G)_n$ , preferentemente  $C(G)_n$  en la que n es un número entero elegido del grupo constituido por 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10, preferentemente del grupo constituido por 0, 1, 2, 3, 4 y 5, más preferentemente de los grupos constituidos por 0, 1, 2 y 3, aún más preferentemente n es 0 o 1 (cuando n es igual a 0, dicha fórmula representa una cisteína). Preferentemente, el péptido antigénico de PCSK9 desvelado en el presente documento comprende además en su extremo N un engarce que tiene la fórmula CGGG, CGG, CG o C y en su extremo C un engarce que tiene la fórmula GGGC, GGC, GC o C. Preferentemente, el péptido antigénico de PCSK9 desvelado en el presente documento comprende además en su extremo N una cisteína y en su extremo C una cisteína.

Se desvelan representantes de dichos péptidos antigénicos de PCSK9 que comprenden además dicho engarce en las SEQ ID NO 313, 314, 315, 316, 317, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418 y 419.

Se desvelan representantes de dichos péptidos antigénicos de PCSK9 que comprenden además dicho engarce en las SEQ ID NO 313, 314, 315, 316, 317, 322, 323, 324, 325, 326, 327 y 328.

Se desvelan péptidos antigénicos de PCSK9 preferidos que comprenden un engarce en las SEQ ID NO 317, 322, 323, 324, 401, 402, 403, 413, 414, 415 y 416.

Se desvelan péptidos antigénicos de PCSK9 preferidos que comprenden un engarce en las SEQ ID NO 317, 322, 323 y 324.

Se desvelan péptidos antigénicos de PCSK9 más preferidos que comprenden un engarce en las SEQ ID NO 317,



322, 402 y 413.

En otra realización, el péptido antigénico de PCSK9 está ciclado. En otra realización, el péptido antigénico de PCSK9 ciclado está unido a un vehículo inmunogénico. En otra realización, dicho péptido antigénico de PCSK9 ciclado está unido a un vehículo inmunogénico por unión covalente. En otra realización, dicho péptido antigénico de PCSK9 ciclado está unido a un vehículo inmunogénico por unión covalente de una de las cadenas laterales de sus aminoácidos al vehículo. En otra realización, se añade una cisteína, una GC o un fragmento de CC que comprende un número variable de restos de glicina y un resto de cisteína a los péptidos de PCSK9 ciclados para permitir la unión covalente al vehículo inmunogénico a través de la cisteína añadida.

En otra realización, el péptido antigénico de PCSK9 se cicla y comprende una cisteína, un  $(G)_n$ C o un fragmentos  $C(G)_n$  en el que n es un número entero elegido del grupo constituido por 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10, preferentemente del grupo constituido por 0, 1, 2, 3, 4 y 5, más preferentemente entre los grupos constituidos por 0, 1, 2 y 3 y aún más preferentemente n es 0 o 1 (cuando n es igual a 0, la fórmula representa una cisteína).

Son ejemplos no limitantes de dichos péptidos antigénicos de PCSK9 limitados conformacionalmente los péptidos de las SEQ ID NO 318, 319, 320 y 321. Un péptido ciclado preferido es el péptido de la SEQ ID NO 318.

A continuación se proporcionan ejemplos de conjugaciones de péptidos antigénicos de PCSK9 con vehículos o armazones descritos anteriormente, todos dentro del alcance de la presente invención y que constituyen diversas realizaciones, usando diversos engarces:

Péptido – GGGGGC – armazón, péptido – GGGGC – armazón, péptido – GGGC – armazón, péptido – GGC – armazón, péptido – GC – armazón, péptido – C – armazón, péptido – GGGGK – armazón, péptido – GGGK – armazón, Péptido – GGGK – armazón, Péptido – GK – armazón, Péptido – K – armazón, Péptido – GGGGSC – armazón, Péptido – GGGSC – armazón, Péptido – GGSC – armazón, Péptido – GSC – armazón, Péptido – SC – armazón, Armazón – CSGGG – Péptido, Armazón – CSGGG – Péptido, Armazón – CSGG – Péptido, Armazón – CSG – Péptido, Armazón – KGGGG – Péptido, Armazón – KGGG – Péptido, Armazón – KGG – Péptido, Armazón – KG – Péptido, Armazón – K – Péptido.

En otra realización, el péptido está constituido por cualquiera de los péptidos antigénicos de PCSK9 desvelados en el presente documento y el armazón está constituido por cualquiera de los vehículos inmunogénicos desvelados en el presente documento, preferentemente una VLP.

A continuación se proporcionan combinaciones ejemplares de conjugaciones usando diversos engarces y péptidos doblemente limitados, en las que el vehículo puede ser el monómero idéntico de un vehículo o un monómero diferente de un vehículo. (En el ejemplo proporcionado más adelante, el engarce GC puede sustituirse por cualquiera del engarce GK o el engarce GSC ejemplificados anteriormente o cualquier otro conocido por los expertos en la materia):

Vehículo – CGGGGG – Péptido – GGGGGC – vehículo, Vehículo – CGGGG – Péptido – GGGGC – vehículo, Vehículo – CGGGG – Péptido – GGGGC – vehículo, Vehículo – CGGG – Péptido – GGGC – vehículo, Vehículo – CG – Péptido – GC – vehículo, Vehículo – CG – Péptido – C – vehículo, Vehículo – C – Péptido – C – vehículo.

En otra realización, el péptido está constituido por cualquiera de los péptidos antigénicos de PCSK9 desvelados en el presente documento y el vehículo está constituido por cualquiera de los vehículos inmunogénicos desvelados en el presente documento, preferentemente una VLP.

En otra realización, la divulgación se refiere a un inmunógeno que comprende un péptido antigénico de PCSK9 constituido por, o constituido esencialmente por, una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo constituido por las SEQ ID NO 1 a 312, 330 a 398 y 420 a 588, en la que dicho péptido antigénico de PCSK9 comprende además en su extremo C o en su extremo N una cisteína que está entrecruzada químicamente con un vehículo inmunogénico a través de un enlace tioéter. En otra realización preferida, dicho vehículo inmunogénico se selecciona del grupo constituido por DT (toxina Diftérica), TT (toxina tetánica) o fragmento C de TT, PD (proteína D de *Haemophilus influenzae*), CRM197, otras mutaciones puntuales de DT tales como CRM176, CRM228, CRM 45, CRM 9, CRM102, CRM 103 y CRM107. Preferentemente, dicho vehículo inmunogénico es CRM197.

En otra realización, la divulgación se refiere a un inmunógeno que comprende un péptido antigénico de PCSK9 constituido por, o constituido esencialmente por, una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo constituido por 1 a 312, 330 a 398 y 420 a 588, en la que dicho péptido antigénico de PCSK9 comprende además en su extremo C o en su extremo N una cisteína que está entrecruzada químicamente con un vehículo inmunogénico a través de un enlace tioéter usando SMPH (Succinimidil-6-[ $\beta$ -maleimidopropionamido]hexanoato) o BAANS (éster de N-hidroxisuccinimida de ácido bromoacético) como agente de entrecruzamiento. En otra realización preferida, dicho vehículo inmunogénico se selecciona entre el grupo constituido por DT (toxina Diftérica), TT (toxina tetánica) o fragmento C de TT, PD (proteína D de *Haemophilus influenzae*), CRM197, otros mutantes puntuales de DT tales como CRM176, CRM228, CRM 45, CRM 9, CRM102, CRM 103 y CRM107. Preferentemente dicho vehículo inmunogénico es CRM197. En otra realización, la divulgación se refiere a un inmunógeno que comprende un péptido antigénico de PCSK9 constituido por, o constituido esencialmente por, una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo constituido por la SEQ ID NO 1 a 312, 330 a 398 y 420 a 588, en la que dicho péptido antigénico de PCSK9 comprende además en su extremo C una cisteína que está entrecruzada químicamente con un vehículo

inmunogénico a través de un enlace tioéter usando SMPH (Succinimidil-6-[β-maleimidopropionamido]hexanoato) o BAANS (éster de N-hidroxisuccinimida de ácido bromoacético) como agente de entrecruzamiento, estando dicho enlace entre un resto de lisina de CRM197 y el resto de cisteína dicho péptido antigénico.

Composiciones que comprenden un péptido antigénico de PCSK9 de la invención

5 La presente invención se refiere además a composiciones, particularmente composiciones inmunogénicas también denominadas "composiciones inmunogénicas de la presente invención", que comprenden un péptido antigénico de PCSK9 de la invención, unido a un vehículo inmunogénico, y opcionalmente al menos un adyuvante. Dichas composiciones inmunogénicas, particularmente cuando se formulan como composiciones farmacéuticas, se consideran útiles para prevenir, tratar o aliviar trastornos relacionados con PCSK9.

10 En algunas realizaciones, una composición inmunogénica de la presente divulgación de acuerdo con la invención comprende un péptido antigénico de PCSK9, que comprende opcionalmente un engarce, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre las SEQ ID NO 1 a 328, 330 a 398 y 401 a 588 y variantes funcionalmente activas de la misma. En algunas realizaciones, dichos péptido antigénico de PCSK9 está unido a un vehículo inmunogénico, preferentemente una DT, CRM197 o una VLP, más preferentemente a una VLP de HBcAg, HBsAg, Qbeta, PP7, PPV o Virus Norwalk.

15 En otra realización preferida, una composición inmunogénica de la presente invención de acuerdo con la divulgación comprende un péptido antigénico de PCSK9, opcionalmente que comprende un engarce, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre las SEQ ID NO 1 a 328, 330 a 398 y 401 a 588 y variantes funcionalmente activas de la misma unida a una VLP, preferentemente una VLP de Qbeta.

20 En otra realización preferida, una composición inmunogénica de la presente divulgación de acuerdo con la invención comprende un péptido antigénico de PCSK9, que comprende opcionalmente un engarce, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre las SEQ ID NO 1 a 328, 330 a 398 y 401 a 588 y variantes funcionalmente activas de la misma, unida a CRM197.

25 Una composición inmunogénica de la presente invención que comprende un péptido antigénico de PCSK9 de acuerdo con la invención puede formularse de varias formas, como se describe con más detalle más adelante.

En algunas realizaciones, una composición inmunogénica de la presente invención comprende una sola especie de péptido antigénico de PCSK9, por ejemplo, la composición inmunogénica comprende una población de péptidos antigénicos de PCSK9, de los que sustancialmente todos tienen la misma secuencia de aminoácidos. En otras realizaciones, una composición inmunogénica de la presente invención comprende dos o más péptidos antigénicos de PCSK9 diferentes, por ejemplo, la composición inmunogénica comprende una población de péptidos antigénicos de PCSK9, cuyos miembros pueden diferir en la secuencia de aminoácidos. Una composición inmunogénica de la presente invención puede comprender de dos a aproximadamente 20 péptidos antigénicos de PCSK9 diferente, por ejemplo, una composición inmunogénica de la presente invención puede comprender 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11-15 o 15-20 péptidos antigénicos de PCSK9 diferentes, teniendo cada uno una secuencia de aminoácidos que difiere de las secuencias de aminoácidos de los otros péptidos antigénicos de PCSK9.

30 En otras realizaciones, una composición inmunogénica de la presente invención comprende un polipéptido antigénico de PCSK9 multimerizado, como se ha descrito anteriormente. Como se usa en el presente documento, las expresiones "composición inmunogénica que comprende un péptido antigénico de PCSK9" o "composición inmunogénica de la invención" o "composición inmunogénica de la presente invención" se refiere a una composición inmunogénica que comprende una sola especie (multimerizada o no) o múltiples especies de uno o más péptidos antigénicos de PCSK9 acoplados o no a un vehículo inmunogénico. Cuando se usan dos o más péptidos acoplados a un vehículo, el péptido puede acoplarse a la misma molécula de vehículo o puede acoplarse individualmente a moléculas de vehículo y después combinarse para producir una composición inmunogénica.

40 Otro aspecto de la invención se refiere a procedimientos para producir un inmunógeno de acuerdo con la invención, comprendiendo dicho procedimiento acoplar un péptido antigénico de PCSK9 a un vehículo inmunogénico. En otra realización, dicho acoplamiento es químico.

Adyuvantes

En algunas realizaciones, una composición inmunogénica de la presente invención comprende al menos un adyuvante. Los adyuvantes adecuados incluyen los adecuados para su uso en mamíferos, preferentemente en seres humanos. Los ejemplos de adyuvantes adecuados conocidos que pueden usarse en seres humanos incluyen, pero no se limitan necesariamente a, alumbre, fosfato de aluminio, hidróxido de aluminio, MF59 (escualeno al 4,3% p/v, polisorbato 80 (Tween 80) al 0,5% p/v, trioleato de sorbitán (Span 85) al 0,5% p/v, ácido nucleico que contiene CpG (donde la citosina no está metilada), QS21 (adyuvante de saponina), MPL (Monofosforil Lípido A), 3DMPL (MPL 3-O-desacilado), extractos de Aquilla, ISCOMS (véase, por ejemplo, Sjölander y col. (1998) *J. Leukocyte Biol.* 64:713; documentos WO90/03184, WO96/11711, WO 00/48630, WO98/36772, WO00/41720, WO06/134423 y WO07/026190), mutantes de LT/CT, micropartículas de poli(D,L-lactida-coglicolida) (PLG), Quil A, TiterMax classic, TiterMax Gold, interleucinas y similares. Para aplicaciones veterinarias que incluyen, pero sin limitación, la experimentación animal, se puede usar adyuvante de Freund, N-acetil-muramil-L-treonil-D-isoglutamina (thr-MDP), N-acetil-normuramil-L-alanil-D-isoglutamina (CGP 11637, denominado nor-MDP), N-acetilmuramil-L-alanil-D-isoglutaminil-L-alanina-2-(1'-2'-dipalmitoil-sn-glicero-3-hidroxifosforiloxi)-etilamina (CGP 19835A, denominado MTP-

PE) y RIBI, que contiene tres componentes extraídos de bacterias, monofosforil lípido A, dimicolato de trehalosa y esqueleto de la pared celular (MPL+TDM+CWS) en una emulsión al 2% de escualeno/Tween80.

Otros adyuvantes ejemplares para aumentar la eficacia de la composición incluyen, pero sin limitación:

- (1) formulaciones de emulsión de aceite en agua (con o sin otros agentes inmunoestimuladores específicos tales como muramil péptidos (véase más adelante) o componentes de la pared celular bacteriana), tales como, por ejemplo, (a) MF59™ (documento WO90/14837; Capítulo 10 en *Vaccine design: the subunit and adjuvant approach*, eds. Powell & Newman, Plenum Press 1995), que contiene Escualeno al 5%, Tween 80 (monooleato de polioxietileno sorbitán) al 0,5% y Span 85 (trioleato de sorbitán) al 0,5% (que contiene opcionalmente muramil tri-péptido unido covalentemente a dipalmitoil fosfatidiletanolamina (MTP-PE)) formuladas en partículas submicrónicas usando un microfluidizador, (b) SAF, que contiene Escualeno al 10%, Tween 80 al 0,4%, polímero L121 bloqueado con pluronic al 5% y thr-MDP microfluidizado en una emulsión submicrométrica o agitado vorticialmente para generar una emulsión de mayor tamaño de partículas, y (c) el sistema adyuvante RIBI™ (RAS), (Ribi Immunochem, Hamilton, MT) que contienen Escualeno al 2%, Tween 80 al 0,2% y uno o más componentes de la pared celular bacteriana tales como monofosforilípido A (MPL), dimicolato de trehalosa (TDM) y esqueleto de la pared celular (CWS), preferentemente MPL + CWS (DETOX™); (2) pueden usarse adyuvantes de saponina tales como QS21, STIMULON™ (Cambridge Bioscience, Worcester, MA), Abisco® (Isconova, Suecia) o Iscomatrix® (Commonwealth Serum Laboratories, Australia) o partículas generadas a partir de los mismos tales como ISCOM (complejos inmunoestimuladores), pudiendo carecer dichos ISCOM de detergente adicional, por ejemplo, documento WO00/07621; (3) Adyuvante Completo de Freund (CFA) y Adyuvante Incompleto de Freund (IFA); (4) citocinas, tales como interleucinas (por ejemplo, IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-12 (documento WO99/44636), etc.), interferones (por ejemplo, interferón gama), factor estimulador de colonias de macrófagos (M-CSF), factor de necrosis tumoral (TNF), etc.; (5) monofosforil lípido A (MPL) o MPL 3-O-desacilado (3dMPL), por ejemplo, documentos GB-2220221, EP-A-0689454, opcionalmente en ausencia sustancial de alumbre cuando se usan con sacáridos de neumococo, por ejemplo, documento WO00/56358; (6) combinaciones de 3dMPL con, por ejemplo, QS21 y/o emulsiones de aceite en agua, por ejemplo, documentos EP-A-0835318, EP-A-0735898, EP-A-0761231; (7) oligonucleótidos que comprenden motivos CpG [Krieg *Vaccine* 2000, 19, 618-622; Krieg *Curr opin Mol Ther*2001 3: 15-24; Roman y col., *Nat. Med.*, 1997, 3, 849-854; Weiner y col., *PNAS USA*, 1997, 94, 10833-10837; Davis y col., *J. Immunol*, 1998, 160, 870-876; Chu y col., *J. Exp.Med*, 1997, 186, 1623-1631; Lipford y col., *Ear. J. Immunol.*, 1997, 27, 2340-2344; Moldoveami y col., *Vaccine*, 1988, 16, 1216-1224, Krieg y col., *Nature*, 1995, 374, 546-549; Klinman y col., *PNAS USA*, 1996, 93, 2879-2883; Ballas y col., *J. Immunol*, 1996, 157, 1840-1845; Cowdery y col., *J. Immunol*, 1996, 156, 4570-4575; Halpern y col., *Cell Immunol*, 1996, 167, 72-78; Yamamoto y col., *Jpn. J. Cancer Res.*, 1988, 79, 866-873; Stacey y col., *J. Immunol.*, 1996, 157,2116-2122; Messina y col., *J. Immunol*, 1991, 147, 1759-1764; Yi y col., *J. Immunol*, 1996, 157,4918-4925; Yi y col., *J. Immunol*, 1996, 157, 5394-5402; Yi y col., *J. Immunol*, 1998, 160, 4755-4761; y Yi y col., *J. Immunol*, 1998, 160, 5898-5906; solicitudes de patente Internacional WO96/02555, WO98/16247, WO98/18810, WO98/40100, WO98/55495, WO98/37919 y WO98/52581], es decir, que contienen al menos un dinucleótido CG, en el que la citosina no está metilada; (8) un éter de polioxietileno o un éster de polioxietileno, por ejemplo, documento WO99/52549; (9) un tensioactivo de éster de polioxietileno sorbitán en combinación con un octoxinol (documento WO01/21207) o un tensioactivo de alquiléter o éster de polioxietileno en combinación con al menos un tensioactivo no iónico adicional tal como un octoxinol (documento WO01/21152); (10) una saponina y un oligonucleótido inmunoestimulador (por ejemplo, un oligonucleótido CPG) (documento WO00/62800); (11) un inmunoestimulante y una partícula de sal metálica, por ejemplo, documento WO00/23105; (12) una saponina y una emulsión de aceite en agua, por ejemplo, documento WO99/11241; (13) una saponina (por ejemplo, QS21) + 3dMPL + IM2 (opcionalmente + un esteroil), por ejemplo, documento WO98/57659; (14) otras sustancias que actúan como agentes inmunoestimuladores para aumentar la eficacia de la composición, tales como Muramil péptidos incluyendo N-acetil-muramil-L-treoniil-D-isoglutamina (thr-MDP), N-25 acetil-normuramil-L-alanil-D-isoglutamina (nor-MDP), N-acetilmuramil-L-alanil-D-isoglutarinil-L-alanina-2-(1'-2'-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-hidroxifosforiloxi)-etilamina (MTP-PE), (15) ligandos para receptores tipo Toll (TIR), naturales o sintetizados (por ejemplo, como se describe en Kanzler y col. 2007, *Nature Medicine* 13, p1552-9), incluyendo ligandos de TLR3 tales como polil:C y compuestos similares tales como Hiltonol y Ampligen.

En otra realización particular, dicho adyuvante es un oligonucleótido inmunoestimulador y, más preferentemente, un oligonucleótido CpG. Un oligonucleótidos CpG, como se usa en el presente documento, se refiere a un oligodesoxinucleótido CpG inmunoestimulador (CpG, ODN), y por consiguiente estas expresiones se usan indistintamente a menos que se indique otra cosa. Los oligodesoxinucleótidos CpG inmunoestimuladores contienen uno o más motivos CpG inmunoestimuladores que son dinucleótidos de citocina-guanina no metilados, opcionalmente dentro de ciertos contextos de bases preferidos. El estado de metilación del motivo inmunoestimulador CpG generalmente se refiere al resto de citosina en el dinucleótido. Un oligonucleótido inmunoestimulador que contiene al menos un dinucleótido CpG no metilado es un oligonucleótido que contiene una citosina 5' no metilada unida por un enlace fosfato a una guanina 3', y que activa el sistema inmune por medio de la unión al receptor tipo Toll 9 (TLR-9). En otra realización, el oligonucleótido inmunoestimulador puede contener uno o más dinucleótidos CpG metilados, que activaran el sistema inmune a través de TLR9 pero no tan fuertemente como si el o los motivos CpG estuvieran no metilados. Los oligonucleótidos inmunoestimuladores CpG pueden comprender uno o más palíndromos que, a su vez, pueden incluir el dinucleótido CpG. Se han descrito oligonucleótidos CpG en varias patentes expedidas, solicitudes de patente publicadas y otras publicaciones,

incluyendo las patentes de Estados Unidos N° 6.194.388; 6.207.646; 6.214.806; 6.218.371; 6.239.116; y 6.339.068. Se han identificado diferentes clases de oligonucleótidos inmunoestimuladores CpG. Éstos se denominan de clase A, B, C y P y se describen con más detalle más adelante. Los procedimientos de la invención incluyen el uso de estas clases diferentes de oligonucleótidos inmunoestimuladores CpG.

5 Cualquiera de las clases puede someterse a una modificación E que aumenta su potencia. Una modificación E puede ser una sustitución con halógeno para el nucleótido 5' terminal; los ejemplos de dichas sustituciones incluyen, pero sin limitación, sustituciones de bromo-uridina o yodo-uridina. Una modificación E también puede incluir una sustitución de etil-uridina para el nucleótido 5' terminal.

10 Los oligonucleótidos inmunoestimuladores CpG de "clase A" se caracterizan funcionalmente por la capacidad de inducir altos niveles de interferón alfa (IFN- $\alpha$ ) a partir de células dendríticas plasmacitoides (pDC) e inducir la activación de células NK mientras que tienen efectos mínimos sobre la activación de células B. Estructuralmente, esta clase típicamente tiene secuencias poli-G estabilizadas en los extremos 5' y 3'. También tiene una secuencia palindrómica que contiene dinucleótido CpG fosfodiéster de al menos 6 nucleótidos, por ejemplo, pero no necesariamente, contiene uno de los siguientes palíndromos hexaméricos: GACGTC, AGCGCT o AACGTT descritos por Yamamoto y colaboradores. Yamamoto S y col. J. Immunol 148: 4072-6 (1992). En la solicitud de Patente No Provisional de Estados Unidos con el Número de Serie 09/672,126 y la solicitud PCT publicada PCT/USOO/26527 (documento WO 01/22990), ambas presentadas el 27 de septiembre de 2000, se ha descrito una clase de oligonucleótidos inmunoestimuladores CpG y secuencias ejemplares de esta clase.

15 En otra realización, el oligonucleótidos CpG de "clase A" de la invención tiene la siguiente secuencia de ácido nucleico: 5'GGGGACGACGTCGTCGGGGGGG 3'.

20 Algunos ejemplos no limitantes de oligonucleótidos de Clase A incluyen:

5' G\*G\*G\_G\_A\_C\_G\_A\_C\_G\_T\_C\_G\_T\_G\_G\*G\*G\*G\*G\*G 3', en la que \* se refiere a un enlace fosforotioato y \_ se refiere a un enlace fosfodiéster.

25 Las secuencias oligonucleotídicas CpG de clase B de la invención son las descritas en líneas generales anteriormente así como las desveladas en las Solicitudes de Patente PCT publicadas PCT/US95/01570 y PCT/US97/19791 y en los documentos USP 6.194.388, 6.207.646, 6.214.806, 6.218.371, 6.239.116 y 6.339.068. Las secuencias ilustrativas incluyen, pero sin limitación, las descritas en estas últimas solicitudes y patentes.

En otra realización, el oligonucleótido CpG de "clase B" de la invención tiene la siguiente secuencia de ácido nucleico:

30 5' TCGTCGTTTTTCGGTGCTTTT 3' (SEQ ID NO: 589), o  
5' TCGTCGTTTTTCGGTCGTTTT 3' (SEQ ID NO: 590) o  
5' TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT 3' (SEQ ID NO: 591) o  
5' TCGTCGTTTCGTCGTTTTGTCGTT 3' (SEQ ID NO: 592), o  
5' TCGTCGTTTTGTCGTTTTTTTCGA 3' (SEQ ID NO: 593).

35 En cualquiera de estas secuencias, todos los enlaces pueden ser enlaces de fosforotioato. En otra realización, en cualquiera de estas secuencias, uno o más de los enlaces pueden ser fosfodiéster, preferentemente entre la "C" y la "G" del motivo CpG formando un oligonucleótido CpG semiblando. En cualquiera de estas secuencias, una etil-uridina o un halógeno puede sustituir a la T 5'; los ejemplos de sustituciones de halógeno incluyen, pero sin limitación, sustituciones de bromo-uridina o yodo-uridina.

40 Algunos ejemplos no limitantes de oligonucleótidos de Clase B incluyen:

45 5' T\*C\*G\*T\*C\*G\*T\*T\*T\*T\*C\*G\*G\*T\*G\*C\*T\*T\*T\*T 3', o  
5' T\*C\*G\*T\*C\*G\*T\*T\*T\*T\*T\*C\*G\*G\*T\*C\*G\*T\*T\*T\*T 3' o  
5' T\*C\*G\*T\*C\*G\*T\*T\*T\*T\*G\*T\*C\*G\*T\*T\*T\*T\*G\*T\*C\*G\*T\*T 3', o  
5' T\*C\*G\*T\*C\*G\*T\*T\*T\*T\*C\*G\*T\*C\*G\*T\*T\*T\*T\*G\*T\*C\*G\*T\*T 3', o  
5' T\*C\*G\*T\*C\*G\*T\*T\*T\*T\*G\*T\*C\*G\*T\*T\*T\*T\*T\*T\*T\*C\*G\*A 3'.

en los que \* se refiere a un enlace fosforotioato.

50 La "clase C" de oligonucleótidos inmunoestimuladores CpG se caracteriza funcionalmente por la capacidad de activar células B y células NK e inducir IFN- $\alpha$ . Estructuralmente, esta clase típicamente incluye una región con uno o más motivos CpG inmunoestimuladores de tipo de clase B, y un palíndromo rico en GC o una región casi palindrómica que permite que las moléculas formen estructuras de tipo secundario (por ejemplo, tallo-bucle) o terciario (por ejemplo, dímeros). Algunos de estos oligonucleótidos tienen tanto una secuencia CpG "estimuladora" tradicional como un motivo "rico en GC" o "neutralizador de células B". Estos oligonucleótidos con motivo de combinación tienen efectos inmunoestimuladores que están en algún sitio entre los efectos asociados con los oligonucleótidos CpG de clase B tradicionales (es decir, fuerte inducción de la activación de células B y activación de células dendríticas (DC)) y los efectos asociados con CpG ODN de clase A (es decir, fuerte inducción de IFN- $\alpha$  y activación de células NK pero inducción relativamente baja de células B y activación de DC). Krieg AM y col. (1995) Nature 374: 546-9; Ballas ZK y col. (1996) J Immunol 157: 1840-5; Yamamoto S y col. (1992) J Immunol 148: 4072-6.

La clase C de oligonucleótidos inmunoestimuladores de motivo de combinación puede tener esqueletos

completamente estabilizados (por ejemplo, todo de fosforotioato), quiméricos (región central de fosfodiéster) o semiblandos (por ejemplo, fosfodiéster dentro de motivo CpG). Esta clase se ha descrito en la solicitud de patente de Estados Unidos US 10/224.523 presentada el 19 de agosto de 2002.

Un dominio estimulador o motivo del oligonucleótido CpG de clase C se define por la fórmula: 5' X<sub>1</sub>DCGHX<sub>2</sub> 3'. D es un nucleótido distinto de C. C es citosina. G es guanina. H es un nucleótido distinto de G. X<sub>1</sub> y X<sub>2</sub> son cualquier secuencia de ácido nucleico con una longitud de 0 a 10 nucleótidos. X<sub>1</sub> puede incluir un CG, en cuyo caso preferentemente es una T que precede inmediatamente a esta CG. En algunas realizaciones, DCG es TCG. X<sub>1</sub> tiene preferentemente una longitud de 0 a 6 nucleótidos. En algunas realizaciones, X<sub>2</sub> no contiene ningún motivo de poli G o poli A. En otras realizaciones, el oligonucleótido inmunoestimulador tiene una secuencia poli T en el extremo 5' o en el extremo 3'. Como se usa en el presente documento, "poli A" o "poli T" se referirá a un tramo de cuatro o más A o T consecutivas, respectivamente, por ejemplo, 5' AAAA 3' o 5' TTTT 3'. Como se usa en el presente documento, "extremo poli G" se referirá a un tramo de cuatro o más G consecutivas, por ejemplo, 5' GGGG 3', que se producen en el extremo 5' o el extremo 3' de un ácido nucleico. Como se usa en el presente documento, "oligonucleótido poli-G" se referirá a un oligonucleótido que tiene la fórmula 5' X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>GGGX<sub>3</sub>X<sub>4</sub> 3' en la que X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub> y X<sub>4</sub> son nucleótidos y preferentemente al menos uno de X<sub>3</sub> y X<sub>4</sub> es una G. Algunos diseños preferidos para el dominio estimulador de células B con esta fórmula comprenden TTTTTCG, TCG, TTCG, TTTTCG, TTTTCG, TCGT, TTCGT, TTTTCGT, TCGTCGT.

El segundo motivo del oligonucleótido CpG de clase C se denomina P o N y está colocado inmediatamente 5' con respecto a X<sub>1</sub> o inmediatamente 3' con respecto a X<sub>2</sub>.

N es una secuencia neutralizadora de células B que empieza con un trinucleótido CGG y tiene una longitud de al menos 10 nucleótidos. Un motivo neutralizador de células B incluye al menos una secuencia CpG en la que la CG va precedida por una C o seguida por una G (Krieg AM y col. (1998) Proc Natl Acad Sci USA 95: 12631-12636) o es una CG que contiene una secuencia de ADN en la que la C de la CG está metilada. Los motivos o secuencias neutralizadoras tienen algún grado de capacidad inmunoestimuladora cuando están presentes en un motivo no estimulador de otra manera, pero cuando están presentes en el contexto de otros motivos inmunoestimuladores sirven para reducir el potencial inmunoestimulador de los otros motivos.

P es un palíndromo rico en GC que contiene una secuencia de al menos 10 nucleótidos de longitud.

Como se usa en el presente documento, "palíndromo" y de forma equivalente "secuencia palindrómica" se referirán a una repetición invertida, es decir, una secuencia tal como ABCDEE'D'C'B'A' en la que A y A', B y B', etc., son bases capaces de formar los pares de bases de Watson-Crick habituales.

Como se usa en el presente documento, "palíndromo rico en GC" se referirá un palíndromo que tiene una composición de bases de al menos dos tercios G y C. En algunas realizaciones, el dominio rico en GC preferentemente es 3' con respecto al "dominio estimulador de células B". En el caso de un palíndromo rico en GC de 10 bases de longitud, el palíndromo contiene, por lo tanto, al menos 8 G y C. En el caso de un palíndromo rico en GC de 12 bases de longitud, el palíndromo también contiene al menos 8 G y C. En el caso de un palíndromo rico en GC 14-mérico, al menos 10 bases del palíndromo son G y C. En algunas realizaciones, el palíndromo rico en GC está constituido exclusivamente por G y C.

En algunas realizaciones, el palíndromo rico en GC tiene una composición de bases de al menos un 81% de G y C. En el caso de dicho palíndromo rico en GC de 10 bases de longitud, el palíndromo está constituido, por lo tanto, exclusivamente por G y C. En el caso de dicho palíndromo rico en GC de 12 bases de longitud, se prefiere que al menos 10 bases (el 83%) del palíndromo sean G y C. En algunas realizaciones preferidas, un palíndromo rico en GC de 12 bases de longitud está constituido exclusivamente por G y C. En el caso de un palíndromo rico en GC 14-mérico, al menos 12 bases (el 86%) del palíndromo son G y C. En algunas realizaciones preferidas, un palíndromo rico en GC de 14 bases de longitud está constituido exclusivamente por G y C. Las C de un palíndromo rico en GC pueden estar no metiladas o pueden estar metiladas.

En general, este dominio tiene al menos 3 C y G, más preferentemente 4 de cada y aún más preferentemente 5 o más de cada una. El número de C y G en este dominio no necesita ser idéntico. Se prefiere que las C y G se dispongan de forma que puedan formar dúplex autocomplementarios, o palíndromos, tales como CCGCGCGG. Esto puede interrumpirse por A o T, pero se prefiere que la autocomplementariedad se conserve al menos parcialmente como, por ejemplo, en los motivos CGACGTTTCGTTCG o CGGCGCCGTGCCG. Cuando no se conserva la complementariedad, se prefiere que los pares de bases no complementarios sean TG. En otra realización preferida, no hay más de tres bases consecutivas que no forman parte del palíndromo, preferentemente no más de 2 y aún más preferentemente solo 1. En algunas realizaciones, el palíndromo rico en GC incluye al menos un trímero CGG, al menos un trímero CCG o al menos un tetrámero CGCG. En otras realizaciones, el palíndromo rico en GC no es CCCCCGGGGGG o GGGGGGCCCCCC, CCCCCGGGGG o GGGGGGCCCC.

Al menos una de las G de la región rica en GC puede estar sustituida con una inosina (I). En algunas realizaciones, P incluye más de una I.

En ciertas realizaciones, el oligonucleótido inmunoestimulador tiene una de las siguientes fórmulas 5' NX<sub>1</sub>DCGHX<sub>2</sub> 3', 5' X<sub>1</sub>DCGHX<sub>2</sub>N 3', 5' PX<sub>1</sub>DCGHX<sub>2</sub> 3', 5' X<sub>1</sub>DCGHX<sub>2</sub>P 3', 5' X<sub>1</sub>DCGHX<sub>2</sub>PX<sub>3</sub> 3', 5' X<sub>1</sub>DCGHX<sub>2</sub>PX<sub>3</sub> 3', 5' DCGHX<sub>2</sub>PX<sub>3</sub> 3', 5' TCGHX<sub>2</sub>PX<sub>3</sub> 3', 5' DCGHPX<sub>3</sub> 3' o 5'DCGHP 3'.

La invención proporciona otros oligonucleótidos inmunoestimuladores definidos por una fórmula 5' N<sub>1</sub>PyGN<sub>2</sub>P 3'. N<sub>1</sub> es cualquier secuencia de 1 a 6 nucleótidos de longitud. Py es una pirimidina. G es guanina. N<sub>2</sub> es cualquier secuencia de 0 a 30 nucleótidos de longitud. P es un palíndromo rico en GC que o contiene una secuencia de al menos 10 nucleótidos de longitud.

N<sub>1</sub> y N<sub>2</sub> pueden contener más de un 50% de pirimidinas y más preferentemente más de un 50% de T. N<sub>1</sub> puede incluir una CG, en cuyo caso preferentemente hay una T inmediatamente antes de esta CG. EN algunas

realizaciones, N<sub>1</sub>PyG es TCG y más preferentemente una TCGN<sub>2</sub>, en la que N<sub>2</sub> no es G.

N<sub>1</sub>PyGN<sub>2</sub>P puede incluir uno o más nucleótidos de inosina (I). La C o la G en N<sub>1</sub> pueden reemplazarse por inopina, pero se prefiere Cpl a lpG. Para las sustituciones de inosina tales como lpG, la actividad óptima puede conseguirse con el uso de un esqueleto "semiblando" o quimérico, en el que la unión entre la IG o la CI es fosfodiéster. N1 puede

5 incluir al menos un motivo CI, TCI, IG o TIG.  
En ciertas realizaciones, N<sub>1</sub>PyGN<sub>2</sub> es una secuencia selecciona entre le grupo constituido por TTTTTCG, TCG, TTCG, TTTTCG, TTTTCG, TCGT, TTCGT, TTTTCGT y TCGTCGT.

En otra realización, el oligonucleótido CpG de "clase C" de la invención tiene la siguiente secuencia de ácido nucleico:

10 5' TCGCGTCGTTTCGGCGCGCGCCG 3' (SEQ ID NO 594), o  
5' TCGTCGACGTTTCGGCGCGCGCCG 3' (SEQ ID NO 595), o  
5' TCGGACGTTTCGGCGCGCGCCG 3' (SEQ ID NO 596), o  
5' TCGGACGTTTCGGCGCGCGCCG 3' (SEQ ID NO 597), o  
15 5' TCGCGTCGTTTCGGCGCGCGCCG 3' (SEQ ID NO 598), o  
5' TCGACGTTTCGGCGCGCGCCG 3' (SEQ ID NO 599), o  
5' TCGACGTTTCGGCGCGCGCCG 3' (SEQ ID NO 600), o  
5' TCGCGTCGTTTCGGCGCGCCG 3' (SEQ ID NO 601), o  
5' TCGCGACGTTTCGGCGCGCGCCG 3' (SEQ ID NO 602), o  
5' TCGTCGTTTTTCGGCGCGCGCCG 3' (SEQ ID NO 603), o  
20 5' TCGTCGTTTTTCGGCGCGCGCCG 3' (SEQ ID NO 604), o  
5' TCGTCGTTTTACGGCGCCGTGCCG 3' (SEQ ID NO 605), o  
5' TCGTCGTTTTTCGGCGCGCGCCGT 3' (SEQ ID NO 606).

En cualquiera de estas secuencias, todos los enlaces pueden ser enlaces fosforotioato. En otra realización, en cualquiera de estas secuencias, uno o más de los enlaces puede ser fosfodiéster, preferentemente entre la "C" y la "G" del motivo CpG que constituye un oligonucleótido CpG semiblando.

25

Algunos ejemplos no limitantes de oligonucleótidos de clase C incluyen:

5' T\*C\_G\*C\_G\*T\*C\_G\*T\*T\*C\_G\*G\*C\*G\*C\_G\*C\*G\*C\*C\*G 3', o  
5' T\*C\_G\*T\*C\_G\*A\*C\_G\*T\*T\*C\_G\*G\*C\*G\*C\_G\*C\*G\*C\*C\*G 3', o  
5' T\*C\_G\*G\*A\*C\_G\*T\*T\*C\_G\*G\*C\*G\*C\_G\*C\*G\*C\*C\*G 3', o  
30 5' T\*C\_G\*G\*A\*C\_G\*T\*T\*C\_G\*G\*C\*G\*C\*G\*C\*C\*G 3', o  
5' T\*C\_G\*C\_G\*T\*C\_G\*T\*T\*C\_G\*G\*C\*G\*C\*G\*C\*C\*G 3', o  
5' T\*C\_G\*A\*C\_G\*T\*T\*C\_G\*G\*C\*G\*C\_G\*C\*G\*C\*C\*G 3', o  
5' T\*C\_G\*A\*C\_G\*T\*T\*C\_G\*G\*C\*G\*C\*G\*C\*C\*G 3', o  
5' T\*C\_G\*C\_G\*T\*C\_G\*T\*T\*C\_G\*G\*C\*G\*C\*G 3', o  
35 5' T\*C\_G\*C\_G\*A\*C\_G\*T\*T\*C\_G\*G\*C\*G\*C\_G\*C\*G\*C\*C\*G 3', o  
5' T\*C\*G\*T\*C\*G\*T\*T\*T\*T\*C\*G\*G\*C\*G\*C\*G\*C\*G\*C\*G 3', o  
5' T\*C\*G\*T\*C\*G\*T\*T\*T\*T\*C\*G\*G\*C\*G\*G\*C\*G\*C\*G\*C\*G 3', o  
5' T\*C\*G\*T\*C\_G\*T\*T\*T\*A\*C\_G\*G\*C\*G\*C\*G\*T\*G\*C\*G 3', o  
5' T\*C\_G\*T\*C\*G\*T\*T\*T\*T\*C\*G\*G\*C\*G\*C\*G\*C\*G\*C\*G\*T 3'

40 en los que \* se refiere a un enlace fosforotioato y \_ se refiere a un enlace fosfodiéster.  
En cualquiera de estas secuencias, una etil-uridina o un halógeno pueden sustituir a la T 5'; los ejemplos de sustituciones de halógeno incluyen, pero sin limitación, sustituciones de bromo-uridina o yodo-uridina.

Los oligonucleótidos inmunoestimuladores CpG de "clase P" se han descrito en el documento WO2007/095316 y se caracterizan por el hecho de que contienen regiones de formación de dúplex tales como, por ejemplo, palíndromos perfectos o imperfectos en, o cerca de, los extremos 5' y 3', que les da la posibilidad de formar estructuras más ordenadas tales como concatámeros. Estos oligonucleótidos denominados oligonucleótidos de clase P tienen la capacidad, en algunos casos, de inducir niveles mucho mayores de secreción de IFN- $\alpha$  que la clase C. Los oligonucleótidos de clase P tienen la capacidad de autoensamblarse espontáneamente en concatámeros *in vitro* y/o *in vivo*. Sin limitarse por ninguna teoría particular con respecto al procedimiento de acción de estas moléculas, una hipótesis posible es que esta propiedad dota a los oligonucleótidos de clase P de la capacidad de entrecruzar en un grado más elevado TLR9 dentro de ciertas células inmunes, induciendo un patrón distinto de activación inmune en comparación con las clases descritas previamente de oligonucleótidos CpG.

En otra realización, el oligonucleótido CpG para su uso en la presente invención es un oligonucleótido CpG de clase P que contiene un dominio de activación de TLR 5' y al menos dos regiones palindrómicas, siendo una región palindrómica una región palindrómica 5' de al menos 6 nucleótidos de longitud y conectada a una región palindrómica 3' de al menos 8 nucleótidos de longitud directamente o a través de un espaciador, en el que el oligonucleótido incluye al menos un dinucleótido YpR. En otra realización, dicho oligonucleótido no es T\*C\_G\*T\*C\_G\*A\*C\_G\*T\*T\*C\_G\*G\*C\*G\*C\_G\*C\*G\*C\*C\*G. En otra realización, el oligonucleótido de CpG de clase P incluye al menos un dinucleótido CpG no metilado. En otra realización, el dominio de activación de TLR es TCG,

55

TTCCG, TTTCG, TYpR, TTYpR, TTTYpR, UCG, UUCG, UUUCG, TTT o TTTT. En otra realización, el dominio de activación de TLR está dentro de la región palindrómica 5'. En otra realización, el dominio de activación de TLR está inmediatamente 5' con respecto a la región palindrómica 5'. En otra realización, la región palindrómica 5' es de al menos 8 nucleótidos de longitud. En otra realización, la región palindrómica 3' es de al menos 10 nucleótidos de longitud. En otra realización, la región palindrómica 5' es de al menos 10 nucleótidos de longitud. En otra realización, la región palindrómica 3' incluye un dinucleótido CpG no metilado. En otra realización, la región palindrómica 3' incluye dos dinucleótidos CpG no metilados. En otra realización, la región palindrómica 5' incluye un dinucleótido CpG no metilado. En otra realización, la región palindrómica 5' incluye dos dinucleótidos CpG no metilados. En otra realización, las regiones palindrómicas 5' y 3' tienen un valor de estabilidad de dúplex de al menos 25. En otra realización, las regiones palindrómicas 5' y 3' tienen un valor de estabilidad de dúplex de al menos 30. En otra realización, las regiones palindrómicas 5' y 3' tienen un valor de estabilidad de dúplex de al menos 35. En otra realización, las regiones palindrómicas 5' y 3' tienen un valor de estabilidad de dúplex de al menos 40. En otra realización, las regiones palindrómicas 5' y 3' tienen un valor de estabilidad de dúplex de al menos 45. En otra realización, las regiones palindrómicas 5' y 3' tienen un valor de estabilidad de dúplex de al menos 50. En otra realización, las regiones palindrómicas 5' y 3' tienen un valor de estabilidad de dúplex de al menos 55. En otra realización, las regiones palindrómicas 5' y 3' tienen un valor de estabilidad de dúplex de al menos 60. En otra realización, las regiones palindrómicas 5' y 3' tienen un valor de estabilidad de dúplex de al menos 65.

En otra realización, las dos regiones palindrómicas están conectadas directamente. En otra realización, las dos regiones palindrómicas están conectadas a través de un enlace 3'-3'. En otra realización, las dos regiones palindrómicas solapan por un nucleótido. En otra realización, las dos regiones palindrómicas solapan por dos nucleótidos. En otra realización, las dos regiones palindrómicas no solapan. En otra realización, las dos regiones palindrómicas están conectadas por un espaciador. En otra realización, el espaciador es un ácido nucleico que tiene una longitud de 1-50 nucleótidos. En otra realización, el espaciador es un ácido nucleico que tiene una longitud de 1 nucleótido. En otra realización, el espaciador es un espaciador no nucleotídico. En otra realización, el espaciador no nucleotídico es un espaciador D. En otra realización, el espaciador no nucleotídico es un engarce. En otra realización, el oligonucleótido tiene la fórmula 5' XP<sub>1</sub>SP<sub>2</sub>T 3', en la que X es el dominio de activación de TLR, P<sub>1</sub> es un palíndromo, S es un espaciador, P<sub>2</sub> es un palíndromo y T es una cola 3' de 0-100 nucleótidos de longitud. En otra realización, X es TCG, TTCCG o TTTCG. En otra realización, T es de 5 a 50 nucleótidos de longitud. En otra realización, T es de 5 a 10 nucleótidos de longitud. En otra realización, S es un ácido nucleico que tiene una longitud de 1-50 nucleótidos. En otra realización, S es un ácido nucleico que tiene una longitud de 1 nucleótido. En otra realización, S es un espaciador no nucleotídico. En otra realización, el espaciador no nucleotídico es un espaciador D. En otra realización, el espaciador no nucleotídico es un engarce. En otra realización, el oligonucleótido no es un oligonucleótido antisentido o una ribozima. En otra realización, P<sub>1</sub> es rico en A y T.

En otra realización, P<sub>1</sub> incluye al menos 4 T. En otra realización, P<sub>2</sub> es un palíndromo perfecto. En otra realización, P<sub>2</sub> es rico en G-C. En otra realización más, P<sub>2</sub> es CGGCGCX<sub>1</sub>GCGCCG, en el que X<sub>1</sub> es T o nada.

En otra realización, el oligonucleótido incluye al menos un enlace fosforotioato. En otra realización, todos los enlaces internucleotídicos del oligonucleótido son enlaces fosforotioato. En otra realización, el oligonucleótido incluye al menos un enlace de tipo fosfodiéster. En otra realización, el enlace de tipo fosfodiéster es un enlace fosfodiéster. En otra realización, un grupo lipófilo se conjuga con el oligonucleótido. En otra realización, el grupo lipófilo es colesterol.

En otra realización, el agonista de TLR-9 para su uso en la presente invención es un oligonucleótido CpG de clase P con un dominio de activación de TLR 5' y al menos dos regiones que contienen complementariedad, una región que contiene complementariedad 5' y una región que contiene complementariedad 3', siendo cada región que contiene complementariedad de al menos 8 nucleótidos de longitud y estando conectadas entre sí directamente o a través de un espaciador, en el que el oligonucleótido incluye al menos un dinucleótido de pirimidina-purina (YpR) y en el que al menos una de las regiones que contienen complementariedad no es un palíndromo perfecto. En otra realización, el oligonucleótido incluye al menos un dinucleótido CpG no metilado. En otra realización, el dominio de activación de TLR es TCG, TTCCG, TTTCG, TYpR, TTYpR, TTTYpR, UCG, UUCG, UUUCG, TTT o TTTT. En otra realización, el dominio de activación de TLR está dentro de la región que contiene complementariedad 5'. En otra realización, el dominio de activación de TLR está inmediatamente en posición 5' con respecto a la región que contiene complementariedad 5'. En otra realización, la región que contiene complementariedad 3' tiene al menos 10 nucleótidos de longitud. En otra realización, la región que contiene complementariedad 5' tiene al menos 10 nucleótidos de longitud. En otra realización, la región que contiene complementariedad 3' incluye un dinucleótido CpG no metilado. En otra realización, la región que contiene complementariedad 3' incluye dos dinucleótidos CpG no metilados. En otra realización, la región que contiene complementariedad 5' incluye un dinucleótido CpG no metilado. En otra realización, la región que contiene complementariedad 5' incluye dos dinucleótidos CpG no metilados. En otra realización, las regiones que contienen complementariedad incluyen al menos un análogo de nucleótido. En otra realización, las regiones que contienen complementariedad forman un dúplex intramolecular. En otra realización, el dúplex intramolecular incluye al menos un par de bases que no es de Watson-Crick. En otra realización, el par de bases que no es de Watson-Crick es G-T, G-A, G-G o C-A. En otra realización, las regiones que contienen complementariedad forman dúplex intermoleculares. En otra realización, al menos uno de los dúplex intermoleculares incluye al menos un par de bases que no es de Watson-Crick. En otra realización, el par de bases que no es de Watson-Crick es G-T, G-A, G-G o C-A. En otra realización, las regiones que contienen complementariedad contienen un desacoplamiento. En otra realización, las regiones que contienen complementariedad contienen dos desacoplamientos. En otra realización, las regiones que contienen complementariedad contienen un nucleótido intermedio. En otra realización, las regiones que contienen complementariedad contienen dos nucleótidos intermedios.

En otra realización, las regiones que contienen complementariedad 5' y 3' tienen un valor de estabilidad de dúplex de al menos 25. En otra realización, las regiones que contienen complementariedad 5' y 3' tienen un valor de estabilidad de dúplex de al menos 30. En otra realización, las regiones que contienen complementariedad 5' y 3' tienen un valor de estabilidad de dúplex de al menos 35. En otra realización, las regiones que contienen complementariedad tienen un valor de estabilidad de dúplex de al menos 40. En otra realización, las regiones que contienen complementariedad tienen un valor de estabilidad de dúplex de al menos 45. En otra realización, las regiones que contienen complementariedad tienen un valor de estabilidad de dúplex de al menos 50. En otra realización, las regiones que contienen complementariedad tienen un valor de estabilidad de dúplex de al menos 55. En otra realización, las regiones que contienen complementariedad tienen un valor de estabilidad de dúplex de al menos 60. En otra realización, las regiones que contienen complementariedad 5' y 3' tienen un valor de estabilidad de dúplex de al menos 65.

En otra realización, las dos regiones que contienen complementariedad están conectadas directamente. En otra realización, las dos regiones palindrómicas están conectadas a través de un enlace 3'-3'. En otra realización, las dos regiones que contienen complementariedad solapan por un nucleótido. En otra realización, las dos regiones que contienen complementariedad no solapan. En otra realización, las dos regiones que contienen complementariedad están conectadas por un espaciador. En otra realización, el espaciador es un ácido nucleico que tiene una longitud de 1-50 nucleótidos. En otra realización, el espaciador es un ácido nucleico que tiene una longitud de 1 nucleótido. En otra realización, el espaciador es un espaciador no nucleotídico. En otra realización, el espaciador no nucleotídico es un espaciador D. En otra realización, el espaciador no nucleotídico es un engarce.

En otra realización el oligonucleótido de clase P tiene la fórmula 5' XNSPT 3', en la que X es el dominio de activación de TLR, N es un palíndromo no perfecto, P es un palíndromo, S es un espaciador y T es una cola 3' de 0-100 nucleótidos de longitud. En otra realización, X es TCG, TTCG o TTTCG. En otra realización, T es de 5 a 50 nucleótidos en longitud. En otra realización T es de 5 a 10 nucleótidos de longitud. En otra realización, S es un ácido nucleico que tiene una longitud de 1-50 nucleótidos. En otra realización, S es un ácido nucleico que tiene una longitud de 1 nucleótido. En otra realización, S es un espaciador no nucleotídico. En otra realización, el espaciador no nucleotídico es un espaciador D. En otra realización, el espaciador no nucleotídico es un engarce. En otra realización, el oligonucleótido no es un oligonucleótido antisentido o una ribozima. En otra realización, N es rico en A y T. En otra realización, N incluye al menos 4 T. En otra realización, P es un palíndromo perfecto. En otra realización, P es rico en G-C. En otra realización, P es CGGCGCX<sub>1</sub>GCGCCG, en el que X<sub>1</sub> es T o nada. En otra realización, el oligonucleótido incluye al menos un enlace fosforotioato. En otra realización, todos los enlaces internucleotídicos del oligonucleótido son enlaces fosforotioato. En otra realización, el oligonucleótido incluye al menos un enlace de tipo fosfodiéster. En otra realización, el enlace de tipo fosfodiéster es un enlace fosfodiéster. En otra realización, un grupo lipófilo se conjuga con el oligonucleótido. En otra realización, el grupo lipófilo es colesterol.

En otra realización, los oligonucleótidos CpG de "clase P" de la invención tienen la siguiente secuencia de ácido nucleico: 5' TCGTCGACGATCGGCGCGCCG 3' (SEQ ID NO 607). En dichas secuencias, todos los enlaces pueden ser enlaces fosforotioato. En otra realización, uno o más de los enlaces pueden ser fosfodiéster, preferentemente entre la "C" y la "G" del motivo CpG que forma un oligonucleótido CpG semiblando. En cualquiera de estas secuencias, una etil-uridina o un halógeno puede sustituir a la T 5'; los ejemplos de sustituciones de halógeno incluyen, pero sin limitación, sustituciones de bromo-uridina o yodo-uridina.

Un ejemplo no limitante de oligonucleótidos de clase P incluye:

5' T\*C\_G\*T\*C\_G\*A\*C\_G\*A\*T\*C\_G\*G\*C\*G\*C\_G\*C\*G\*C\*C\*G 3'

en el que \* se refiere a un enlace fosforotioato y \_ se refiere a un enlace fosfodiéster.

En otra realización, todos los enlaces internucleotídicos de los oligonucleótidos CpG desvelados en el presente documento son enlaces fosfodiéster (oligonucleótidos "blandos", como se describe en la solicitud PCT WO2007/026190). En otra realización, los oligonucleótidos CpG de la invención se vuelven resistentes a la degradación (por ejemplo, están estabilizados). Un "oligonucleótido estabilizado" se refiere a un oligonucleótido que es relativamente resistente a la degradación *in vivo* (por ejemplo, por medio de una exo o endonucleasa). La estabilización de ácidos nucleicos puede conseguirse por medio de modificaciones del esqueleto. Los oligonucleótidos que tienen enlaces fosforotioato proporcionan una actividad máxima y protegen al oligonucleótido de la degradación por exo y endonucleasas intracelulares.

Los oligonucleótidos inmunoestimuladores pueden tener un esqueleto quimérico, que tiene combinaciones de enlaces fosfodiéster y fosforotioato. Para los fines de la presente invención, un esqueleto quimérico se refiere a un esqueleto parcialmente estabilizado, en el que al menos un enlace internucleotídico es fosfodiéster o de tipo fosfodiéster, y en el que al menos otro enlace internucleotídico es un enlace internucleotídico estabilizado, en el que dicho al menos un enlace fosfodiéster o de tipo fosfodiéster y dicho al menos un enlace estabilizado son diferentes. Cuando el enlace fosfodiéster se localiza preferentemente dentro del motivo CpG, dichas moléculas se denominan "semiblandas" como se describe en la solicitud PCT WO2007/026190.

Otros oligonucleótidos modificados incluyen combinaciones de enlaces fosfodiéster, fosforotioato, metilfosfonato, metilfosforotioato, fosforoditioato y/o p-etoxi.

Como se ha notificado que los enlaces boranofosfonato están estabilizados con respecto a los enlaces fosfodiéster, para los fines de la naturaleza quimérica del esqueleto, los enlaces boranofosfonato pueden clasificarse como de tipo fosfodiéster o como estabilizados, dependiendo del contexto. Por ejemplo, un esqueleto quimérico de acuerdo



con la presente invención podría incluir, en algunas realizaciones, al menos un enlace fosfodiéster (fosfodiéster o de tipo fosfodiéster) y al menos un enlace boranofosfonato (estabilizado). En otras realizaciones, un esqueleto quimérico de acuerdo con la presente invención podría incluir enlaces boranofosfonato (fosfodiéster o de tipo fosfodiéster) y fosforotioato (estabilizados). Un "enlace internucleotídico estabilizado" significará un enlace internucleotídico que es relativamente resistente a la degradación *in vivo* (por ejemplo, a través de una exo o endonucleasa) en comparación con un enlace internucleotídico fosfodiéster. Los enlaces internucleotídicos estabilizados preferidos incluyen, sin limitación, fosforotioato, fosforoditioato, metilfosfonato y metilfosforotioato. Otros enlaces internucleotídicos estabilizados incluyen, sin limitación, péptido, alquilo, desfosfo y otros como se ha descrito anteriormente.

Los esqueletos modificados tales como fosforotioatos pueden sintetizarse usando técnicas automáticas que emplean la química de fosforoamidato o H-fosfonato. Los aril y alquil fosfonatos pueden fabricarse, por ejemplo, como se describe en la Patente de Estados Unidos N° 4.469.863; y los alquilfosfotriésteres (en los que el resto de oxígeno cargado está alquilado como se describe en la patente de Estados Unidos N° 5.023.243 y en la Patente Europea N° 092.574) pueden prepararse por síntesis automática en fase sólida usando reactivos disponibles en el mercado. Se han descrito procedimientos para fabricar otras modificaciones y sustituciones de esqueleto de ADN. Uhlmann E y col. (1990) Chem Rev 90: 544; Goodchild J (1990) Bioconjugate Chem 1: 165. También se conocen procedimientos para preparar oligonucleótidos quiméricos. Por ejemplo, patentes expedidas a Uhlmann y col. han descrito dichas técnicas.

Pueden sintetizarse ODN modificados con esqueleto mixto como se describe en la solicitud PCT WO2007/026190.

Los oligonucleótidos de la invención también pueden incluir otras modificaciones. Éstas incluyen análogos de ADN no iónicos, tales como alquil y aril-fosfatos (en los que el oxígeno de fosfonato cargado se reemplaza por un grupo alquilo o arilo), fosfodiéster y alquilfosfotriésteres, en los que el resto de oxígeno cargado está alquilado. También se ha mostrado que son sustancialmente resistentes a la degradación por nucleasas ácidos nucleicos que contienen diol tales como tetraetilenglicol o hexaetilenglicol, en uno o los dos extremos.

El tamaño del oligonucleótido CpG (es decir, el número de restos nucleotídicos a lo largo del oligonucleótido) también puede contribuir a la actividad estimuladora del oligonucleótido. Para facilitar la captación por las células, el oligonucleótido CpG de la invención preferentemente tiene una longitud mínima de 6 restos nucleotídicos. Los oligonucleótidos de cualquier tamaño mayor de 6 nucleótidos (incluso muchas kb de longitud) pueden inducir una respuesta inmune si están presentes suficientes motivos inmunoestimuladores, porque los oligonucleótidos de mayor tamaño se degradan dentro de las células. En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos CpG tienen de 6 a 100 nucleótidos de longitud, preferentemente de 8 a 30 nucleótidos de longitud. En realizaciones importantes, los ácidos nucleicos y oligonucleótidos de la invención no son plásmidos o vectores de expresión.

En otra realización, el oligonucleótido CpG descrito en el presente documento comprende sustituciones o modificaciones, tales como en las bases y/o azúcares como se describe en los párrafos 134 a 147 del documento WO2007/026190.

En otra realización, el oligonucleótido CpG de la presente invención está modificado químicamente. Se conocen ejemplos de modificaciones químicas por el experto en la materia y se describen, por ejemplo, en Uhlmann E. y col. (1990), Chem. Rev. 90: 543, S. Agrawal, Ed., Humana Press, Totowa, USA 1993; Croke, S. T. y col. (1996) Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 36: 107-129; y Hunziker J. y col., (1995), Mod. Synth. Methods 7: 331-417. Un oligonucleótido de acuerdo con la invención puede tener una o más modificaciones, donde cada modificación está localizada en un enlace internucleosídico fosfodiéster particular y/o en una unidad de  $\beta$ -D-ribosa particular y/o en una posición de base nucleosídica natural particular en comparación con un oligonucleótido de la misma secuencia que está compuesto de ADN o ARN natural.

En algunas realizaciones de la invención, los ácidos nucleicos que contienen CpG pueden mezclarse simplemente con vehículos inmunogénicos de acuerdo con procedimientos conocidos por los expertos en la materia (véase, por ejemplo, el documento WO03/024480).

En otra realización particular de la presente invención, cualquiera de las vacunas desveladas en el presente documento comprende de 20  $\mu$ g a 20 mg de oligonucleótido CpG, preferentemente de 0,1 mg a 10 mg de oligonucleótido CpG, preferentemente de 0,2 mg a 5 mg de oligonucleótido CpG, preferentemente de 0,3 mg a 3 mg de oligonucleótido CpG, incluso más preferentemente de 0,4 a 2 mg de oligonucleótido CpG, e incluso más preferentemente de 0,5 a 1,5 mg de oligonucleótido CpG. En otra realización preferida, cualquiera de las vacunas desveladas en el presente documento comprende de aproximadamente 0,5 a 1 mg de oligonucleótido CpG.

Son adyuvantes preferidos para su uso en la presente invención alumbre, QS21, CpG ODN, alumbre en combinación con CpG ODN, Iscomatrix e Iscomatrix en combinación con CpG ODN.

#### Composiciones farmacéuticas de la invención

La invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un péptido antigénico de PCSK9 de la invención o una composición inmunogénica del mismo, en una formulación junto con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, y opcionalmente combinado con uno o más adyuvantes (como los adyuvantes descritos anteriormente). El término "excipiente" se usa en el presente documento para describir cualquier ingrediente distinto del ingrediente activo, es decir, el péptido antigénico de PCSK9 de la invención en última

instancia acoplado a un vehículo inmunogénico y, opcionalmente, combinado con uno o más adyuvantes. La elección del excipiente o de los excipientes dependerá en gran medida de factores tales como el modo de administración particular, el efecto del excipiente sobre la solubilidad y estabilidad, y la naturaleza de la forma farmacéutica. Como se usa en el presente documento, un "excipiente farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, revestimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes retardantes de la absorción e isotónicos y similares que sean fisiológicamente compatibles. Algunos ejemplos de excipientes farmacéuticamente aceptables son agua, solución salina, solución salina tamponada con fosfato, dextrosa, glicerol, etanol y similares, así como combinaciones de los mismos. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol o cloruro sódico en la composición. Son ejemplos adicionales de sustancias farmacéuticamente aceptables agentes humectantes o cantidades minoritarias de sustancias auxiliares tales como agentes humectantes o emulsionantes, conservantes o tampones, que aumentan la vida útil o la eficacia del ingrediente activo.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención y procedimientos para su preparación serán fácilmente evidentes para los expertos en la materia. Dichas composiciones y procedimientos para su preparación pueden encontrarse, por ejemplo, en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 19ª Edición (Mack Publishing Company, 1995). Las composiciones farmacéuticas se fabrican preferentemente en condiciones GMP.

Una composición farmacéutica de la invención puede prepararse, envasarse o comercializarse a granel, como una sola dosis unitaria o como una pluralidad de dosis unitarias individuales. Como se usa en el presente documento, una "dosis unitaria" es una cantidad discreta de la composición farmacéutica que comprende una cantidad predeterminada del ingrediente activo. La cantidad del ingrediente activo generalmente es igual a la dosificación del ingrediente activo que se administraría a un sujeto o una fracción conveniente de dicha dosificación tal como, por ejemplo, la mitad o un tercio de dicha dosificación.

Cualquier procedimiento de administración de péptidos o proteínas aceptado en la técnica puede emplearse adecuadamente para los péptidos o las proteínas de la invención.

Las composiciones farmacéuticas de la invención son típicamente adecuadas para su administración parenteral. Como se usa en el presente documento, la "administración parenteral" de una composición farmacéutica incluye cualquier vía de administración caracterizada por la ruptura física de un tejido de un sujeto y la administración de la composición farmacéutica a través de la rotura en el tejido, dando como resultado por lo tanto generalmente la administración directa en el torrente sanguíneo, en un músculo o en un órgano interno. La administración parenteral incluye por lo tanto, pero sin limitación, la administración de una composición farmacéutica por inyección de la composición, por aplicación de la composición a través de una incisión quirúrgica, por aplicación de la composición a través de una herida no quirúrgica que penetre en el tejido y similares. En particular, se contempla que la administración parenteral incluye, pero sin limitación, inyección o infusión subcutánea, intraperitoneal, intramuscular, intraesternal, intravenosa, intraarterial, intratecal, intraventricular, intrauretral, intracraneal, intrasinovial; y técnicas de infusión por diálisis renal. Las realizaciones preferidas incluyen las vías intravenosa, subcutánea, intradérmica e intramuscular, son realizaciones aún más preferidas las vías intramuscular o subcutánea.

Las formulaciones de una composición farmacéutica adecuadas para administración parenteral comprenden típica y generalmente el ingrediente activo combinado con un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como agua estéril o solución salina isotónica estéril. Dichas formulaciones pueden prepararse, envasarse o comercializarse en una forma adecuada para su administración en embolada o para su administración continua. Pueden prepararse formulaciones inyectables, envasarse o comercializarse en forma farmacéutica unitaria, tal como en ampollas o en recipientes multidosis que contienen un conservante. Las formulaciones para administración parenteral incluyen, pero sin limitación, suspensiones, soluciones, emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, pastas y similares. Dichas formulaciones pueden comprender además uno o más ingredientes adicionales incluyendo, pero sin limitación, agentes de suspensión, estabilización o dispersión. En otra realización de una formulación para administración parenteral, el ingrediente activo se proporciona en forma seca (es decir, en polvo o granular) para su reconstitución con un vehículo adecuado (por ejemplo, agua estéril sin pirógenos) antes de la administración parenteral de la composición reconstituida. Las formulaciones parenterales también incluyen soluciones acuosas que pueden contener excipientes tales como sales, carbohidratos y agentes tamponantes (preferentemente a un pH de 3 a 9) pero, para algunas aplicaciones, pueden formularse más convenientemente como una solución no acuosa estéril o como una forma seca que se usará junto con un vehículo adecuado tal como agua estéril sin pirógenos. Las formas de administración parenteral ejemplares incluyen soluciones o suspensiones en soluciones acuosas estériles, por ejemplo, soluciones acuosas de propilenglicol o dextrosa. Dichas formas farmacéuticas pueden tamponarse convenientemente si se desea. Otras formulaciones administrables por vía parenteral que son útiles incluyen las que comprenden el ingrediente activo en forma microcristalina, microparticulada o en una preparación liposomal. Las formulaciones para la administración parenteral pueden formularse para que sean de liberación inmediata y/o de liberación modificada. Las formulaciones de liberación modificada incluyen liberación retardada, sostenida, pulsátil, controlada, dirigida y programada.

Por ejemplo, en un aspecto, pueden prepararse soluciones inyectables estériles por incorporación del anti-péptido PCSK9, preferentemente acoplado a un vehículo inmunogénico, opcionalmente en combinación con uno o más adyuvantes, en la cantidad necesaria en un disolvente apropiado con uno o una combinación de ingredientes enumerados anteriormente, según sea necesario, seguido de esterilización por filtración. Generalmente, se preparan dispersiones por incorporación del compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes necesarios de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los procedimientos de preparación preferidos son secado al vacío y

secado por congelación, que produce un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente deseado adicional a partir de una solución previamente esterilizada por filtración del mismo. La fluidez apropiada de una solución puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un revestimiento tal como lecitina, por el mantenimiento del tamaño de partícula necesario en el caso de una dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La absorción prolongada de composiciones inyectables puede provocarse incluyendo en la composición un agente que retrase la absorción, por ejemplo, sales de monoestearato y gelatina.

Una composición farmacéutica ejemplar no limitante de la invención es una formulación como una solución acuosa estéril que tiene un pH que varía de aproximadamente 5,0 a aproximadamente 6,5 y que comprende de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml de un péptido de la invención, de aproximadamente 1 milimolar a aproximadamente 100 milimolar de tampón histidina, de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 10 mg/ml de polisorbato 80, de aproximadamente 100 milimolar a aproximadamente 400 milimolar de trehalosa y de aproximadamente 0,01 milimolar a aproximadamente 1,0 milimolar de EDTA disódico dihidrato.

Los péptidos antigénicos de PCSK9 de la invención también pueden administrarse por vía intranasal o por inhalación, típicamente en forma de un polvo seco (en solitario, como una mezcla o como una partícula de componentes mixtos, por ejemplo, mezclada con un excipiente farmacéuticamente aceptable adecuado) desde un inhalador de polvo seco, como una pulverización de aerosol desde un recipiente presurizado, bomba, pulverizador, atomizador (preferentemente un atomizador usando la electrohidrodinámica para producir una neblina fina) o nebulizador, con o sin el uso de un propulsor adecuado, o como gotas nasales.

El recipiente presurizado, bomba, pulverizador, atomizador o nebulizador contiene generalmente una solución o suspensión de un anticuerpo de la invención que comprende, por ejemplo, un agente adecuado para dispersión, solubilización o liberación prolongada del agente activo y un propulsor o propulsores como disolvente.

Antes del uso en una formulación de suspensión o polvo seco, el producto farmacológico generalmente se microniza hasta un tamaño adecuado para su administración por inhalación (típicamente inferior a 5 micrómetros). Esto puede conseguirse por cualquier procedimiento de trituración apropiado, tal como trituración en molino de chorro en espiral, trituración en molino de chorro de lecho fluido, procesamiento de fluido supercrítico para formar nanopartículas, homogeneización a alta presión o secado por pulverización.

Pueden formularse cápsulas, blísteres y cartuchos para su uso en un inhalador o insuflador para que contengan una mezcla en polvo del compuesto de la invención, una base en polvo adecuada y un modificador del rendimiento.

Una formulación de solución adecuada para su uso en un atomizador usando electrohidrodinámica para producir una neblina fina puede contener una dosis adecuada del péptido antigénico de PCSK9 de la invención por accionamiento y el volumen de accionamiento puede variar, por ejemplo, de 1 µl a 100 µl.

Pueden añadirse saporíferos adecuados, tales como mentol y levomentol, o edulcorantes, tales como sacarina o sacarina sódica a esas formulaciones de la invención destinadas a la administración por inhalación/intranasal.

Las formulaciones para administración por inhalación/intranasal pueden formularse para que sean de liberación inmediata y/o modificada. Las formulaciones de liberación modificada incluyen liberación retardada, sostenida, pulsátil, controlada, dirigida y programada.

En el caso de inhaladores y aerosoles de polvo seco, la unidad de dosificación se determina por medio de una válvula que suministra una cantidad medida. Las unidades de acuerdo con la invención se disponen típicamente para administrar una dosis medida o "descarga" de un anticuerpo de la invención. La dosis diaria global se administrará típicamente en una sola dosis o, más habitualmente, como dosis divididas a lo largo del día.

Una composición farmacéutica que comprende un péptido antigénico de PCSK9 también puede formularse para una administración por vía oral. La administración oral puede incluir deglución, de modo que el compuesto entra en el tracto gastrointestinal y/o administración bucal, lingual o sublingual, por la que el compuesto entra en el torrente sanguíneo directamente desde la boca.

Las formulaciones adecuadas para administración oral incluyen sistemas sólidos, semisólidos y líquidos tales como comprimidos; cápsulas blandas o duras que contienen multi- o nanopartículas, líquidos o polvos; grageas (incluyendo rellenas de líquido); masticables; geles; formas farmacéuticas de dispersión rápida; películas, óvulos; pulverizaciones; y parches bucales/mucoadhesivos.

Las formulaciones líquidas incluyen suspensiones, soluciones, jarabes y elixires. Dichas formulaciones pueden emplearse como cargas en cápsulas blandas o duras (hechas, por ejemplo, de gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa) y típicamente comprenden un vehículo, por ejemplo, agua, etanol, polietilenglicol, propilenglicol, metilcelulosa o un aceite adecuado, y uno o más agentes emulsionantes y/o agentes de suspensión. Las formulaciones líquidas también pueden prepararse por reconstitución de un sólido, por ejemplo, a partir de un sobrecillo.

Las composiciones de la invención pueden usarse para tratar, aliviar o prevenir trastornos o síntomas mediados por PCSK9 en un sujeto en riesgo de padecer o que padece dicho trastorno o síntoma por estimulación de una respuesta inmune en dicho sujeto por inmunoterapia. La inmunoterapia puede comprender una inmunización inicial seguida de, por ejemplo, uno, dos, tres o más refuerzos adicionales.

Una "cantidad inmunológicamente eficaz" de un péptido antigénico de PCSK9 de la invención, o una composición del mismo, es una cantidad que se administra a un sujeto mamífero, en una sola dosis o como parte de una serie, que es eficaz para inducir una respuesta inmune contra PCSK9 en dicho sujeto. Esta cantidad varía dependiendo del estado de salud y físico del individuo a tratar, del grupo taxonómico del individuo a tratar, de la capacidad del sistema inmune del individuo para sintetizar anticuerpos, la formulación de la vacuna y otros factores importantes. Es de esperar que la cantidad se incluya en un intervalo relativamente amplio que puede determinarse por medio de ensayos apropiados.

Una "dosis farmacéuticamente eficaz" o "dosis terapéuticamente eficaz" es la dosis necesaria para tratar o prevenir o aliviar uno o más de trastornos o síntomas relacionados con PCSK9 en un sujeto. La dosis farmacéuticamente eficaz depende entre otros del compuesto específico a administrar, de la gravedad de los síntomas, de la susceptibilidad del sujeto a efectos secundarios, del tipo de enfermedad, de la composición usada, de la vía de administración, del tipo de mamífero a tratar, de las características físicas del mamífero específico en consideración tales como el estado de salud y físico, la medicación simultánea, la capacidad del sistema inmune del individuo para sintetizar anticuerpos, el grado de protección deseado y otros factores que reconocerán los expertos en la técnica médica. Con fines profilácticos, la cantidad de péptido en cada dosis se selecciona como una cantidad que induce una respuesta inmunoprotectora sin los efectos secundarios adversos significativos de las vacunas típicas. Después de una vacunación inicial, los sujetos pueden recibir una o varias inmunizaciones de refuerzo adecuadamente separadas en el tiempo.

Se entiende que el nivel de dosis específico para cualquier paciente particular depende de una diversidad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la edad, peso corporal, salud general, género, dieta, momento de administración, vía de administración y velocidad de excreción, combinación de fármacos y gravedad de la enfermedad particular que se está sometiendo a terapia.

Por ejemplo, pueden administrarse péptidos antigénicos de PCSK9 o composiciones farmacéuticas de la invención a un sujeto a una dosis de aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 5 mg, por ejemplo, de aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 5 µg, de aproximadamente 5 µg a aproximadamente 10 µg, de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 25 µg, de aproximadamente 25 µg a aproximadamente 50 µg, de aproximadamente 50 µg a aproximadamente 100 µg, de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 500 µg, de aproximadamente 500 µg a aproximadamente 1 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 2 mg, con refuerzos opcionales administrados, por ejemplo, a 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, dos meses, tres meses, 6 meses y/o un año después.

En algunas realizaciones, se administra una sola dosis de un péptido antigénico de PCSK9 o una composición farmacéutica de acuerdo con la invención. En otras realizaciones, se administran múltiples dosis de un péptido antigénico de PCSK9 o una composición farmacéutica de acuerdo con la invención. La frecuencia de administración puede variar dependiendo de cualquiera de una diversidad de factores, por ejemplo, la gravedad de los síntomas, el grado de inmunoprotección deseado, de si la composición se usa con fines profilácticos o curativos, etc. Por ejemplo, en algunas realizaciones, se administra un péptido antigénico de PCSK9 o una composición farmacéutica de acuerdo con la invención una vez al mes, dos veces al mes, tres veces al mes, cada dos semanas (qow), una vez por semana (qw), dos veces por semana (biw), tres veces por semana (tiw), cuatro veces por semana, cinco veces por semana, seis veces por semana, día sí día no (qod), diariamente (qd), dos veces al día (qid) o tres veces al día (tid). Cuando la composición de la invención se usa con fines profilácticos, generalmente se administrará tanto para la dosis de sensibilización como para la de refuerzo. Se espera que las dosis de refuerzo estén adecuadamente separadas en el tiempo o se administren preferentemente una vez al año o en los momentos en los que los niveles de anticuerpos circulantes disminuyan por debajo del nivel deseado. Las dosis de refuerzo pueden estar constituidas por el péptido antigénico de PCSK9 en ausencia de la molécula de vehículo inmunogénica original. Dichas construcciones de refuerzo pueden comprender un vehículo inmunogénico alternativo o pueden ser en ausencia de cualquier vehículo. Dichas composiciones de refuerzo pueden formularse con o sin adyuvante.

La duración de la administración de un péptido antigénico de PCSK9 de acuerdo con la invención, por ejemplo, el periodo de tiempo durante el que se administra un péptido antigénico de PCSK9 puede variar dependiendo de cualquiera de una diversidad de factores, por ejemplo, la respuesta del paciente, etc. Por ejemplo, un péptido antigénico de PCSK9 puede administrarse durante un periodo de tiempo que varía de aproximadamente un día a aproximadamente una semana, de aproximadamente dos semanas a aproximadamente cuatro semanas, de aproximadamente un mes a aproximadamente dos meses, de aproximadamente dos meses a aproximadamente cuatro meses, de aproximadamente cuatro meses a aproximadamente seis meses, de aproximadamente seis meses a aproximadamente ocho meses, de aproximadamente ocho meses a aproximadamente 1 año, de aproximadamente 1 año a aproximadamente 2 años, o de aproximadamente 2 años a aproximadamente 4 años o más.

También se contemplan una diversidad de procedimientos de tratamiento por la presente divulgación, comprendiendo dichos procedimientos administrar un péptido antigénico de PCSK9 de acuerdo con la invención. Los procedimientos de tratamiento del presente documento incluyen procedimientos para inducir una respuesta inmune en un individuo contra la PCSK9 propia y procedimientos para prevenir, aliviar o tratar un trastorno o síntoma relacionado con PCSK9 en un individuo.

En un aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para tratar, prevenir o aliviar un trastorno o síntoma relacionado con PCSK9 en un sujeto, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido antigénico de PCSK9 de la invención o una composición inmunogénica o farmacéutica del mismo a dicho sujeto.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para inducir una respuesta inmune contra la PCSK9 propia en un sujeto, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente o inmunológicamente eficaz de un péptido antigénico de PCSK9 de la invención, o una composición inmunogénica o farmacéutica del mismo, a dicho sujeto.

Una enfermedad relacionada con PCSK9 o una enfermedad mediada por PCSK9 es, por ejemplo, una enfermedad en la que la inhibición de la actividad de PCSK9 o la inhibición de la interacción de PCSK9 con el receptor de LDL podría ser beneficiosa.

Los términos “tratar”, “se trata” y “tratamiento” se refieren a un procedimiento para aliviar o suprimir un trastorno biológico y/o al menos uno de sus síntomas relacionados. Como se usa en el presente documento, “aliviar” una enfermedad, trastorno o afección se refiere a reducir la gravedad y/o frecuencia de aparición de los síntomas de la enfermedad, trastorno o afección. Además, las referencias en el presente documento a “tratamiento” incluyen referencias a un tratamiento curativo, paliativo y profiláctico. Dicho sujeto es preferentemente un ser humano y puede ser tanto masculino como femenino, de cualquier edad.

Otros aspectos de la invención se refieren a un péptido antigénico de PCSK9 de acuerdo con la invención o de una composición inmunogénica o una composición farmacéutica del mismo, para su uso como un medicamento, preferentemente, en el tratamiento, alivio o profilaxis de trastornos relacionados con PCSK9.

En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de un péptido antigénico de PCSK9 de la invención o de una composición inmunogénica o una composición farmacéutica del mismo, en la fabricación de un medicamento, preferentemente para tratar un trastorno relacionado con PCSK9.

En particular, la invención se refiere a un péptido antigénico de PCSK9 de la invención, o una composición inmunogénica o farmacéutica del mismo, para su uso como un medicamento, preferentemente en el tratamiento, alivio o profilaxis de una enfermedad asociada con un nivel elevado de colesterol.

En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de un péptido antigénico de PCSK9 de la invención o de una composición inmunogénica o una composición farmacéutica del mismo, en la fabricación de un medicamento, preferentemente para reducir el nivel de colesterol-LDL en la sangre en un sujeto que lo necesita.

En algunos aspectos de los usos o procedimientos de la invención, dicho trastorno relacionado con PCSK9 se selecciona entre el grupo constituido por el colesterol elevado, una afección asociada con el colesterol-LDL elevado, por ejemplo, un trastorno de lípidos (por ejemplo, hiperlipidemia, hiperlipidemia de tipo I, tipo II, tipo III, tipo IV o tipo V, hipertrigliceridemia secundaria, hipercolesterolemia, hipercolesterolemia familiar, xantomatosis, deficiencia de colesterol aciltransferasa), afecciones arterioescleróticas (por ejemplo, aterosclerosis) arteriopatía coronaria y enfermedad cardiovascular.

En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de un péptido antigénico de PCSK9 de la invención o de una composición inmunogénica o composición farmacéutica del mismo, en la fabricación de un medicamento para tratar o aliviar enfermedades en las que es beneficiosa una regulación positiva del receptor de LDL o una inhibición de la interacción entre PCSK9 y el receptor de LDL.

En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de un péptido antigénico de PCSK9 de la invención o de una composición inmunogénica o una composición farmacéutica del mismo, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

En otros aspectos de los usos o procedimientos de la invención, dicho sujeto es un mamífero, preferentemente un ser humano.

En otros aspectos de los usos o procedimientos de la invención, dicho sujeto padece dicho trastorno relacionado con PCSK9. Como alternativa, dicho sujeto está en riesgo de padecer dicho trastorno relacionado con PCSK9, por ejemplo, debido a la presencia de uno o más factores de riesgo (por ejemplo, hipertensión, hábito de fumar cigarrillos, diabetes, obesidad o hiperhomocisteinemia).

El péptido antigénico de PCSK9 de la invención o una composición inmunogénica o una composición farmacéutica del mismo son útiles para sujetos que son intolerantes a la terapia con otro agente reductor del colesterol, o para los que la terapia con otro agente reductor del colesterol ha producido resultados inadecuados (por ejemplo, sujetos que experimentan una reducción insuficiente de LDL-c con terapia con estatina). El péptido antigénico de PCSK9 de la invención descrito en el presente documento puede administrarse a un sujeto con niveles elevados de colesterol-LDL.

Preferentemente, un sujeto con niveles elevados de colesterol es un sujeto humano con niveles totales de colesterol en plasma de 200 mg/dl o mayores. Preferentemente, un sujeto con colesterol elevado es un sujeto humano con niveles de colesterol LDL de 160 mg/dl o mayores.

Los niveles totales de colesterol en plasma y los niveles de colesterol-LDL se miden usando procedimientos convencionales en muestras de sangre obtenidas después de un ayuno apropiado. Los protocolos para medir los niveles totales de colesterol en plasma y los niveles de colesterol-LDL son bien conocidos para el experto en la materia.

En otra realización, el péptido antigénico de PCSK9 o una composición inmunogénica o una composición farmacéutica del mismo se administra junto con otro agente, y los dos pueden administrarse secuencialmente en cualquier orden o de forma simultánea. En algunas realizaciones, un péptido antigénico de PCSK9 o una composición inmunogénica o composición farmacéutica del mismo se administra a un sujeto que también está recibiendo terapia con un segundo agente (por ejemplo, un segundo agente reductor del colesterol). Los agentes reductores del colesterol incluyen estatinas, secuestrantes de ácidos biliares, niacina, derivados de ácido fíbrico y ácidos alfa, omega-dicarboxílicos de cadena larga. Las estatinas inhiben la síntesis del colesterol bloqueando la HMGCoA, una enzima clave en la biosíntesis del colesterol. Son ejemplos de estatinas lovastatina, pravastatina, atorvastatina, cerivastatina, fluvastatina y simvastatina. Los secuestrantes de ácidos biliares interrumpen el reciclado de los ácidos biliares desde el intestino al hígado. Son ejemplos de estos agentes colestiramina y clorhidrato de colestipol. Son ejemplos de derivados de ácido fíbrico clobifrato y genfibrocil. Se describen ácidos alfa, omega-dicarboxílicos de cadena larga, por ejemplo, por Bisgaier y col., 1998, J. Lipid Res. 39: 17-30; documento WO

98/30530; la Patente de Estado Unidos N° 4.689.344; documento WO 99/00116; Patente de Estados Unidos N° 5.756.344; Patente de Estados Unidos N° 3.773.946; Patente de Estados Unidos N° 4.689.344; Patente de Estados Unidos N° 4.689.344; Patente de Estados Unidos N° 4.689.344; y Patente de Estados Unidos N° 3.930.024); éteres (véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos N° 4.711.896; Patente de Estados Unidos N° 5.756.544; Patente de Estados Unidos N° 6.506.799). También pueden usarse fosfatos de dolicol (Patente de Estados Unidos N° 4.613.593) y derivados de azolidinadiona (Patente de Estados Unidos N° 4.287.200) para reducir los niveles de colesterol. Un régimen de terapia de combinación puede ser aditivo o puede producir resultados sinérgicos (por ejemplo, reducciones en colesterol mayores de lo esperado para el uso combinado de los dos agentes). En algunas realizaciones, la terapia combinada con un péptido antigénico de PCSK9 o una composición inmunogénica o una composición farmacéutica del mismo y una estatina produce resultados sinérgicos (por ejemplo, reducciones sinérgicas de colesterol). En algunos sujetos, esto puede permitir la reducción de la dosificación de estatina para conseguir los niveles de colesterol deseados.

**Ejemplos**

Los siguientes ejemplos se exponen para proporcionar a los expertos habituales en la materia una divulgación y descripción completas de cómo realizar y usar la presente invención, y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran su invención ni pretenden representar que los experimentos proporcionados a continuación son todos o los únicos experimentos realizados. Se han realizado esfuerzos para asegurar la exactitud con respecto a los números usados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.) pero deben tenerse en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. A menos que se indique otra cosa, las partes son partes en peso, el peso molecular es peso molecular medio ponderal, la temperatura está en grados Centígrados y la presión es la presión atmosférica o una presión próxima a ella. Pueden usarse abreviaturas convencionales, por ejemplo, pb, par(es) de base(s); kb, kilobase(s); pl, picolitro(s); s o seg segundos; min, minutos; h, horas; aa, aminoácido(s); kb, kilobase(s); pb, par(es) de base(s); nt, nucleótido(s); i.m., por vía intramuscular; i.p., por vía intraperitoneal; s.c., por vía subcutánea y similares.

**Ejemplo 1. Selección de péptidos antigénicos de PCSK9 en el dominio PCSK9-EGF-A de la interfaz del receptor de LDL**

La estructura de PCSK9 humana que se une al dominio EGF-A del receptor de LDL se ha resuelto y publicado (Kwon y col., PNAS 105, 1820-1825, 2008). Esta información estructural (PDB: 3BPS) se usó junto con la información de la estructura de PCSK9 libre, PDB: 2P4E (Cunningham y col., Nature Structural & Molecular Biology, 14, 413-419, 2007) para diseñar los siguientes péptidos que corresponderían a áreas de importancia para la interacción de PCSK9-receptor de LDL (véase la figura 1).

- Péptido 1 . ASSDCSTCFV** (SEQ ID NO: 19)
- Péptido 2. GTRFHRQASK** (SEQ ID NO: 63)
- Péptido 3. IQSDHREIEGRV** (SEQ ID NO: 109)
- Péptido 4. SGRDAGVAKGA** (SEQ ID NO: 153)
- Péptido 5. SIPWNLERITP** (SEQ ID NO: 184)

Como los péptidos 1-4 representan bucles en la estructura de PCSK9, las secuencias respectivas (SEQ ID NO 19, 63, 109 y 153) se realizaron con engarces Cys, Cys-Gly o Lys añadidos para permitir el acoplamiento con los dos extremos al vehículo de VLP para proporcionar un mimético conformacional de la estructura de bucle natural (VR\_9.1 a VR\_9.4 en la Tabla 1). Además, también se realizaron versiones cicladas de péptidos 2-4 (VR\_9.6 a VR\_9.9 en la Tabla 1) que proporcionaron un resto de Cys para el acoplamiento a VLP. El péptido 1 se realizó con un engarce N-terminal Lys-Gly-Gly con fines de acoplamiento de forma que los dos restos de Cys estuvieran libres para el enlace disulfuro como lo están en la estructura de PCSK9 nativa. El péptido 5 representa el extremo N-terminal de la forma madura procesada de PCSK9 humana y se acopló a través de un resto de cisteína añadido en el extremo C-terminal para permitir que el extremo N-terminal estuviera libre para el reconocimiento del anticuerpo (VR\_9.5 en la Tabla 1). La siguiente tabla (Tabla 1) describe 9 péptidos generados para evaluación como candidatos de vacuna.

**Tabla 1.** Secuencias de péptidos

| Péptido | Secuencia                             | SEQ ID NO |
|---------|---------------------------------------|-----------|
| VR_9.1  | <u>KGG</u> ASSDCSTCFV                 | 313       |
| VR_9.2  | <u>CGG</u> TRFHRQASK <u>C</u>         | 314       |
| VR_9.3  | <u>CGI</u> QSDHREIEGRV <u>C</u>       | 315       |
| VR_9.4  | <u>C</u> SGRDAGVAKG <u>A</u> <u>C</u> | 316       |
| VR_9.5  | SIPWNLERIT <u>P</u> <u>C</u>          | 317       |

(continuación)

| Péptido | Secuencia                     | SEQ ID NO |
|---------|-------------------------------|-----------|
| VR_9.6  | ASK- <u>Cys(H)</u> -GDGTRFHRQ | 318       |
| VR_9.7  | AG- <u>Cys(H)</u> -GTRFHRQ    | 319       |
| VR_9.8  | GRV- <u>Cys(H)</u> -IQSDHREIE | 320       |
| VR_9.9  | AGVAKGAG- <u>Cys(H)</u> -SGRD | 321       |

El subrayado indica restos de cisteína evaluados con fines de conjugación y el subrayado doble indica un engarce GC o KGG.

### Ejemplo 2 – Preparación de conjugados de Péptido-VLP para evaluación como candidatos de vacuna

Los péptidos se sintetizaron usando un protocolo Fmoc convencional sobre una resina de amida CLEAR. Las reacciones de acoplamiento de aminoácidos se realizaron usando un exceso de 5 veces de aminoácido protegido con Fmoc activado con 1 equiv. de HBTU (hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio) en presencia de HOBt (hidroxibenzotriazol) y NMM (N-metilmorfolina). La desprotección del grupo Fmoc se consiguió con piperidina/DMF al 20%. Después, se escindió el péptido unido a la resina y los grupos protectores de la cadena lateral se retiraron simultáneamente con Reactivo D (TFA/H<sub>2</sub>O/DODT: 89/3/8). El péptido se generó con un extremo N-terminal libre y un extremo C-terminal amidado. El péptido bruto se purificó hasta la homogeneidad por HPLC usando una columna C18 BEH 130 y un gradiente de agua/cetonitrilo en presencia de TFA al 0,1%. El péptido purificado se secó al vacío usando un liofilizador. El péptido se analizó usando espectrometría de masas (CL-EM) y proporcionó datos satisfactorios.

La VLP de Q $\beta$  usada en este estudio se produjo por fermentación bacteriana de *E. Coli* en una cepa BL21 (DE3) que incorpora un plásmido pET28 que codifica la proteína monomérica de 14kD: MAKLETVTLGNIGKDGKQTLVLPNPRGVNPTNGVASLSQAGAVPALEKRVTVSVSQPSRNRKKNYKVQVKIQNPTACTA NGSCDPSVTRQAYADVTSFTQYSTDEERAFVRELAALLASPLLIDAIDQLNPAY (ID del Genbank: M99039). La fermentación se induce a una DO600 de 0,8 con IPTG y se deja continuar durante una noche en caldo terrific (TB) con kanamicina. La VLP, que se autoensambla en la célula huésped, después se purificó a partir del sedimento celular de fermentación usando el procedimiento descrito en la solicitud de patente EP1736538 con las siguientes diferencias: después de la ruptura de las células, el homogeneizado clarificado se trató con sulfato amónico a una saturación del 50% y el sedimento celular se recuperó por centrifugación. Después, el sedimento se redisolvió en tampón HEPES y se dializó frente a tampón HEPES antes de continuar con la primera etapa de columna en el procedimiento publicado. Después de las etapas de intercambio iónico y columna de hidroxilapatita, el material se purificó usando una etapa de columna de intercambio aniónico adicional y se filtró de forma estéril para generar el material de VLP a granel final, que se analizó por cromatografía de exclusión por tamaños, SDS-PAGE y microscopía electrónica con resultados aceptables.

#### Conjugación de péptidos a través de restos de cisteína:

La VLP de Q $\beta$  se activó usando éster de N-gama-maleimido-butililoxi-succinimida (GMBS) o el reactivo de unión Succinimidil-6-[ $\beta$ -maleimidopropionamido]hexanoato de mayor tamaño. El procedimiento para el uso de estos dos reactivos fue similar: se disolvió reactivo sólido en dimetilsulfóxido (DMSO) y se añadió a la solución de VLP a un exceso molar  $\geq 10$  veces. Se dejó que la reacción de activación continuara durante  $\geq 90$  minutos y después la solución se desalificó usando una columna de desalificación NAP-25 en solución Salina Tamponada con Fosfato de Dulbecco (DPBS) con EDTA 5 mM o Solución Salina Tamponada con Fosfato de Dulbecco (DPBS) que se había modificado por la adición de NaCl sólido (14,6 g/l). Cuando fue necesario, la solución de proteína se concentró ligeramente usando microconcentradores de centrifugación de 10 kD antes de la siguiente reacción de conjugación.

Antes de la reacción de conjugación, los péptidos se disolvieron en una alícuota de DPBS pH 7,4, con EDTA 5 mM como aditivo. La concentración del péptido en solución fue de 10 mg/ml. El péptido solubilizado se añadió a una alícuota de agente reductor inmovilizado en TCEP (Pierce Chemical) que se había lacado en DPBS que contenía EDTA 5 mM. La alícuota de péptido se incubó con mezcla en presencia del gel de TCEP durante aproximadamente 1 hora, después de lo cual la alícuota se centrifugó en una microcentrífuga y se desechó el sedimento sólido. El sobrenadante que contenía el péptido reducido se añadió directamente a la VLP activada que se había preparado anteriormente. Una alternativa para este procedimiento, sin embargo, es la adición de péptido sólido directamente a la muestra de VLP de Q $\beta$  activada. Los dos procedimientos funcionan igualmente bien para la generación de conjugados de péptido-VLP.

La reacción entre las VLP y los péptidos reducidos se dejó continuar durante al menos treinta minutos con mezcla muy suave. Al final del tiempo de reacción, cada muestra se desalificó en PBS de Dulbecco (DPBS) usando columnas de desalificación NAP-10 o NAP-25 (GE Healthcare). Los péptidos conjugados desalificados se analizaron

con respecto al contenido de proteína usando el ensayo Bradford (Azul Brillante de Coomassie, Pierce Chemical Co) o el ensayo de proteína BCA (ácido bicinconínico) (Pierce Chemical Co) así como por SDS-PAGE y cromatografía de exclusión por tamaños. Los productos conjugados se filtraron de forma estéril usando un filtro de 0,22  $\mu\text{m}$  y se almacenaron a 2-8°C hasta el uso. Se prestó una atención cuidadosa a estas muestras durante el almacenamiento para impedir la congelación o la exposición a extremos de temperatura.

La conjugación del péptido de PCSK9 con CRM197 se realizó usando BAANS (éster de N-hidroxisuccinimida de ácido bromoacético, Sigma B8271). CRM197 primero se activó por reacción con BAANS en carbonato sódico 0,1 M pH 8,3 con una relación molar de 100 en una sala fría durante 90 minutos. La mezcla de reacción se pasó a través de una columna de desalificación Zeba y se recogió el flujo. El péptido de PCSK9 a 10 mg/ml se incubó con un volumen igual de gel reductor de TCEP inmovilizado (Thermo Scientific) a temperatura ambiente durante 1 hora y se recogió después de la centrifugación a través de un filtro de 0,2  $\mu\text{m}$ . Después, el CRM197 activado se mezcló con el péptido tratado en la sala fría durante una noche, seguido de una diálisis considerable en tampón PBS. El conjugado se recuperó, se concentró y se esterilizó a través de un filtro de 0,22  $\mu\text{m}$ . La concentración de proteína se determinó usando ensayo con azul de Coomassie (Thermo Scientific).

### 15 **Conjugación de péptidos a través de aminas**

Para la conjugación de péptidos con Q $\beta$  a través de restos de amina, específicamente el péptido VR\_9.1, se siguió el siguiente procedimiento. Se derivatizó inicialmente Q $\beta$  por la adición de anhídrido succínico sólido a un exceso molar  $\geq 10$  veces con respecto al monómero de VLP. Se dejó que el anhídrido succínico se disolviera y se dejó que la reacción de derivatización continuara durante al menos 30 minutos. Después de este tiempo, la muestra se desalificó usando una columna de desalificación NAP-25 en solución Salina Tamponada con Fosfato de Dulbecco (DPBS) con EDTA 5 mM. A continuación, se añadieron los siguientes reactivos en el orden indicado a un exceso molar  $\geq 10$  veces con respecto al monómero de VLP: péptido sólido, N-hidroxisulfosuccinimida y finalmente 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida. Después de la adición de los reactivos en el orden indicado anteriormente, la muestra se incubó a temperatura ambiente y se dejó que la reacción continuara durante al menos 30 minutos, después de lo cual el conjugado de VLP-péptido se desalificó usando columnas de desalificación NAP-25 en Solución Salina Tamponada con Fosfato de Dulbecco (DPBS).

El grado de conjugación para las muestras de VLP-péptido se midió usando SDS-PAGE y se observó un aumento de peso molecular para todas las muestras que es coherente con la adición del péptido al monómero de proteína de VLP. Además, las muestras se ensayaron en el ensayo de cromatografía de exclusión por tamaños de HPLC (usando una columna de HPLC Tosoh PWXL5000) y se descubrió que contenía VLP ensambladas cuando se comparaba con muestras no conjugadas de VLP. Las características de conjugación de VLP-péptido se resumen en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Conjugados de VLP-Péptido

| Péptido | VLP activada añadida | Cantidad de péptido añadida | Rendimiento de VLP de entrada en porcentaje | Sustitución aproximada (ug de péptido por mg de monómero de VLP) |
|---------|----------------------|-----------------------------|---|--|
| VR_9.1  | 4 mg                 | 5 mg                        | 40-60%                                      | 25 ug  |
| VR_9.2  | 3 mg                 | 5 mg                        | 40-60%                                      | 125 ug   |
| VR_9.3  | 3 mg                 | 5 mg                        | 40-60%                                      | 125 ug   |
| VR_9.4  | 3 mg                 | 5 mg                        | 40-60%                                      | 125 ug   |
| VR_9.5  | 3 mg                 | 5 mg                        | 40-60%                                      | 50 ug  |
| VR_9.6  | 3 mg                 | 5 mg                        | 40-60%                                      | 125 ug   |
| VR_9.7  | 3 mg                 | 5 mg                        | 40-60%                                      | 125 ug   |
| VR_9.8  | 3 mg                 | 5 mg                        | 40-60%                                      | 125 ug   |
| VR_9.9  | 3 mg                 | 5 mg                        | 40-60%                                      | 125 ug   |
| VR_9.10 | 3 mg                 | 5 mg                        | 40-60%                                      | 125 ug   |
| VR_9.11 | 3 mg                 | 2 mg                        | 40-60%                                      | 125 ug   |
| VR_9.12 | 3 mg                 | 2 mg                        | 40-60%                                      | 125 ug   |



(continuación)

| Péptido  | VLP activada añadida | Cantidad de péptido añadida | Rendimiento de VLP de entrada en porcentaje | Sustitución aproximada (ug de péptido por mg de monómero de VLP) |
|--|----------------------|-----------------------------|---|--|
| VR_9.13  | 3 mg                 | 2 mg                        | 40-60%                                      | 125 ug   |
| VR_9.14  | 3 mg                 | 2 mg                        | 40-60%                                      | 125 ug   |
| VR_9.15  | 3 mg                 | 2 mg                        | 40-60%                                      | 125 ug   |
| VR_9.16  | 3 mg                 | 2 mg                        | 40-60%                                      | 125 ug   |
| VR_9.17  | 10 mg                | 9,5 mg                      | 95%   | 82 ug  |
| VR_9.18  | 10 mg                | 8,7 mg                      | 90%   | 74 ug  |
| VR_9.19  | 10 mg                | 7,6 mg                      | 80%   | 58 ug  |
| VR_9.20  | 10 mg                | 8,7 mg                      | 95%   | 86 ug  |
| VR_9.21  | 10 mg                | 8,8 mg                      | 95%   | 92 ug  |
| VR_9.22  | 10 mg                | 6,6 mg                      | 85%   | 62 ug  |
| VR_9.23  | 10 mg                | 10,0 mg                     | 90%   | 85 ug  |
| VR_9.24  | 10 mg                | 10,5 mg                     | 75%   | 64 ug  |
| VR_9.25  | 10 mg                | 5,1 mg                      | 40%   | 1 ug   |
| VR_9.26  | 10 mg                | 10,0 mg                     | 60%   | 123 ug   |
| VR_9.27  | 10 mg                | 9,6 mg                      | 60%   | 136 ug   |
| VR_9.28  | 10 mg                | 9,4 mg                      | 65%   | 153 ug   |
| VR_9.29  | 10 mg                | 4,2 mg                      | 75%   | 19 ug  |
| VR_9.30  | 10 mg                | 4,4 mg                      | 63%   | 15 ug  |
| VR_9.31  | 10 mg                | 4,4 mg                      | 70%   | 13 ug  |
| VR_9.32  | 10 mg                | 4,4 mg                      | 63%   | 15 ug  |
| VR_9.33  | 10 mg                | 7,4 mg                      | 40%   | 18 ug  |
| VR_9.34  | 10 mg                | 7,3 mg                      | 50%   | 23 ug  |
| VR_9.35  | 7,5 mg               | 4,3 mg                      | 61%   | 16 ug  |
| * Determinado por SDS-PAGE y cálculos de densitometría |                      |                             |   |  |

**Ejemplo 3: inmunogenicidad del péptido de PCSK9**

5 Este estudio pretendía evaluar lo eficaces que eran los péptidos conjugados con una VLP de Qbeta (como se ha detallado en el Ejemplo 2 anterior) para inducir una respuesta de anticuerpos que puedan unirse a PCSK9 humana y de ratón. En ratones Balb/c hembra (6-8 semanas) se inyectaron por vía intramuscular (volumen de 50 microlitros inyectado en cada músculo *Tibialis anterior*) los días 0, 21 y 42 conjugados de VLP-péptido formulados en alumbre con CpG de fórmula 5' TCGTCGTTTTTCGGTGCTTTT 3'. Un grupo de ratones de control se inmunizó con VLP acoplada a un péptido de control (que no era PCSK9) siguiendo el mismo protocolo y un segundo grupo de control se dejó sin inmunizar. La necropsia se realizó el día 49. En la necropsia se extrajeron muestras de sangre de 400 – 10 600 microlitros de los ratones sacrificados por punción cardiaca usando un anticoagulante. La sangre se centrifugó para separar el plasma, que se almacenó congelado hasta el ensayo.

15 Las respuestas de anticuerpos IgG contra la proteína PCSK9 recombinante humana de longitud completa se midieron usando un procedimiento ELISA colorimétrico. Se prepararon diluciones seriadas a partir de muestras de suero y se ensayaron en el ensayo.

**Procedimiento 1 ELISA de PCSK9 humana:** se recubrieron placas de ensayo de alta unión de 384 pocillos (Corning International N° de Cat. 3700) con 25 µl/pocillo de solución madre de proteína PCSK9 humana diluida a 1 µg/ml con PBS 0,01 M pH 7,4 y se incubaron en un agitador a TA durante 3 horas. Después de lavar 2 veces con PBS pH 7,4, las placas se bloquearon usando 80 µl/pocillo de PBS 0,01 M/BSA al 1%, y se incubaron a TA durante 1 hora antes de un lavado final 3 veces con PBS 0,01 M pH 7,4/Tween 20 al 0,05%. Al día siguiente, se preparó una dilución seriada semilogarítmica de 8 puntos de cada muestra empezando a una dilución 1:25 (diluyente PBS/BSA al 1%), se transfirieron 25 µl/pocillo de la dilución seriada por duplicado a la placa recubierta con PCSK9 humana y después se incubaron con agitación a TA durante 1,5 horas. Después de lavar 3 veces con PBS 0,01 M pH 7,4/Tween 20 al 0,05%, se añadieron 25 µl/pocillo de anticuerpo de detección de IgG total (Rabbit anti-mu IgG-Fc, N° de Cat. A90-130A Bethyl Laboratories) a una dilución 1:6000 con PBS 0,01 M pH 7,4/BSA al 1%, y después se incubó con agitación a TA durante 1 hora. Después del lavado 5 veces con PBS 0,01 M pH 7,4/Tween 20 al 0,05%, se añadieron 25 µl/pocillo de conjugado de anticuerpo de cabra anti conejo conjugado con peroxidasa de rábano picante del kit Biorad (Bio-Rad N° Cat 172 -1019) 1:3000 con PBS 0,01 M pH 7,4/Tween 20 al 0,05% pH 7,4 y después se incubó con agitación a TA durante 1 hora. Después de lavar 4 veces con PBS 0,01 M pH 7,4/Tween 20 al 0,05% y después 1 vez con PBS 0,01 M pH 7,4 únicamente, se añadieron 25 µl/pocillo de Mouse Typer HRP Substrate (Bio-Rad N° Cat. 172 -1064) y las placas se incubaron a TA durante 30 minutos. Se añadieron 25 µl/pocillo de ácido oxálico al 2% y después se leyó la absorbancia a Abs 405 nm.

**Procedimiento 1 ELISA de PCSK9 de ratón:** Se recubrieron placas ELISA de 96 pocillos 4HBX con 100 µl de PCSK9 de ratón recombinante a 1 µg/ml en PBS durante una noche a 4°C. Después del lavado, las placas se bloquearon con 300 µl de PBS/BSA 0,5% (Sigma A7030) durante 1 hora, se lavaron 4 veces con 300 µl de PBS/Tween 20 al 0,01% y se añadieron 100 µl de diluciones seriadas de muestras plasmáticas (en PBS/BSA el 0,5%). Después de la incubación con agitación suave durante 1 hora a temperatura ambiente, las placas se lavaron 4 veces con 300 µl de PBS/Tween 20 al 0,01% y se añadieron 100 µl de una dilución 1:5000 de IgG de cabra anti-ratón-HRP (peroxidasa de rábano picante; Pierce 31430) a cada pocillo. Las placas se incubaron a temperatura ambiente con agitación suave durante 45 minutos y después se lavaron 7 veces con 300 µl de PBS/Tween-20 al 0,01%. Después, se añadieron 100 µl de sustrato TMB (Sigma T-4444), la reacción colorimétrica se detuvo después de 4 minutos por adición de ácido sulfúrico 2 N y la absorbancia se leyó a 450 nM.

**Análisis de datos:** Se representaron curvas de titulación para cada muestra de ensayo (dilución de muestra frente a absorbancia). El título de muestra (posteriormente transformado en título recíproco) se tomó después como la dilución de suero que conseguía valores de densidad óptica límite (DO) de 1,0 o 0,5.

#### Medición del nivel de colesterol en plasma/suero

Se midieron los niveles de colesterol en muestras de plasma y suero usando un kit de ensayo de Colesterol E WACO (N° de Cat. 439-17501) siguiendo las instrucciones de los fabricantes. Se añadieron diluciones de muestras de plasma/suero de ensayo o de patrón de colesterol (volumen 4 µl) a pocillos de una placa de 96 pocillos y se añadieron 196 µl de reactivo de colesterol preparado. La placa se incubó durante 5 minutos a 37°C y la absorbancia del color desarrollado se leyó a 600 nm antes de que hubieran transcurrido 30 minutos.

#### Medición de la interacción entre PCSK9 y el dominio extracelular del receptor de LDL

La interrupción de la unión de LDLR y PCSK9 por plasma de ratón se determinó con el ensayo TR-FRET (ensayo de transferencia de energía de resonancia de fluorescencia de resolución en el tiempo) usando el dominio extracelular de LDLR marcado con fluoróforo (LDLR-ECD) y la proteína PCSK9 de tipo silvestre de longitud completa. Se marcó LDLR-ECD (R&D system, n° cat. 2148-LD/CF) con europio (GE healthcare, N° Cat. PA99148) de acuerdo con las instrucciones de fabricante (a una relación molar de Eu:LDLR 6:1). PCSK9 se biotiniló con Biotina-XX-SSE (Pierce, n° cat. 21237) a una relación molar de Biotina:PCSK9 de 8. El ensayo de TR-FRET se realizó con LDLR-Eu+3 5 nM, PCSK9-Biotina 30 nM y Alexa Fluor 647 conjugado con estreptavidina 50 mM (SA647, Invitrogen, n° cat. S21374) en 20 µl de tampón de ensayo (Hepes 20 mM, pH 7,0, NaCl 150 mM, CaCl<sub>2</sub> 0,1 mM y BSA al 0,05% (p/v)) en placas negras de 96 pocillos (Corning, N° Cat. 3676). Se preincubaron diluciones seriadas de plasma de ratón con PCSK9-biotina a TA durante 30 minutos en una cámara humidificada, seguido de mezcla con LDLR y estreptavidina-SA647. Después de una incubación adicional de 60 minutos a TA en una atmósfera humidificada en la oscuridad, las placas se leyeron en un lector de placas Perkin Elmer Victor2 usando un tiempo de retraso de 50 µs y una ventana de 400 µs. Los datos se presentan como la relación de las señales a (665 nm/615 nm) x1000.

**Resultados:** como se muestra en la Figura 2, todos los péptidos usados como inmunógenos pudieron inducir respuestas de anticuerpo contra la proteína PCSK9 humana de longitud completa intacta, induciendo algunos mayores respuestas que otros. En todos los casos, estas respuestas presentaron reacción cruzada con PCSK9 de ratón como se muestra en la Figura 3. La Figura 4 muestra que la inmunización con el péptido VR\_9.5 también condujo a una reducción de los niveles de colesterol en plasma y las Figuras 5 y 6 muestran que VR\_9.5 y VR\_9.6 indujeron respuestas de anticuerpo en suero que podían inhibir la interacción entre PCSK9 y receptores de LDL usando un ensayo de transferencia de energía de resonancia de fluorescencia (FRET).

**Ejemplo 4 – Diseño de péptidos que corresponden a regiones distintas del dominio EGF-A del receptor presente en PDB:3BPS:**

El receptor de LDL es un proteína multidominio cuyos dominios extracelulares están constituidos por un dominio de unión a ligando N-terminal, tres repeticiones de tipo EGF (de las que EGF-A es una de ellas), un dominio  $\beta$ -propulsor y un "dominio de azúcar unido a O" (Kwon y col., PNAS 105, 1820-1825, 2008). El archivo de PDB 3GCX detalla la estructura de PCSK9 en un complejo con una forma soluble de únicamente el dominio EGF-A del receptor de LDL, por lo tanto los presente inventores postularon que pueden existir interacciones adicionales no evidentes entre PCSK9 y el receptor de LDL que no pueden deducirse a partir del análisis directo de las moléculas representadas en PDB:3GCX. En la Figura 7 se detallan ejemplos de estas regiones y específicamente se identificaron dos secuencias en PCSK9 que podían actuar como supuestas interfaces adicionales de receptor (NAQDQPVTLGTL y INEAWFPEDQQRVL – véase la figura 8).

**SIPWNLERIIP (SEQ ID NO 332) (ratón)**  
**NAQDQPVTLGTL (SEQ ID NO: 227)**  
**INEAWFPEDQQRVL (SEQ ID NO: 263)**  
**INMAWFPEDQQVL (SEQ ID NO 360) (ratón)**

Usando secuencias de PCSK9 murinas que se encuentran en bases de datos públicas, también se identificaron los homólogos murinos (como se presenta en la tabla 3). Los presente inventores también postularon que parte de la secuencia de aminoácidos contenida dentro del péptido VR\_9.5 (descrito en el Ejemplo 1) también pueden interaccionar con partes del receptor de LDL no visibles en PDB: 3BPS (Figura 8). Este concepto se probó refinando la secuencia VR\_9.5 alterando el engarce aminoácidos y la orientación de conjugación. Los presentes inventores también identificaron un péptido correspondiente al homólogo de ratón de VR\_9.5 (péptido VR\_9.10). La serie resultante de secuencias peptídicas de la estrategia descrita anteriormente se modificó por la adición de aminoácidos para permitir la conjugación química y se evaluaron como candidatos de vacuna (péptido detallados en la tabla 3).

**Tabla 3 – Secuencias de péptidos**

| Péptido | Secuencia                | Especies           | SEQ ID NO |
|---------|--------------------------|--------------------|-----------|
| VR_9.10 | SIPWNLERIIP <u>C</u>     | Ratón              | 322       |
| VR_9.11 | <u>CGG</u> SIPWNLERIIP   | Ratón              | 323       |
| VR_9.12 | SIPWNLERIIP <u>GCG</u>   | Ratón              | 324       |
| VR_9.13 | <u>CGG</u> NAQDQPVTLGTL  | Ratón y Ser Humano | 325       |
| VR_9.14 | NAQDQPVTLGTL <u>GCG</u>  | Ratón y Ser Humano | 326       |
| VR_9.15 | <u>CGG</u> INMAWFPEDQQVL | Ratón              | 327       |
| VR_9.16 | INMAWFPEDQQVL <u>GCG</u> | Ratón              | 328       |

Los restos subrayados indican aminoácidos añadidos con fines de conjugación.

**Ejemplo 5**

Se conjugaron los péptidos VR\_9.10 a VR\_9.16 (así como VR\_9.5 para comparación) con VLP de Q $\beta$  como se ha descrito en el ejemplo 2 y se usaron para inmunizar ratones y evaluar respuestas de anticuerpo a PCSK9 como se ha descrito en el ejemplo 3, usando una VLP no conjugada como inmunógeno de control. Como se muestra en la Figura 9 y 10, todos los péptidos indujeron anticuerpos que podían reconocer PCSK9 de ratón de longitud completa intacta en un ensayo ELISA.

**Ejemplo 6**

Basándose en la observación de los presente inventores de que se induce una reducción del colesterol por inmunización con el péptido VR\_9.5, que representa el extremo N de la forma procesada madura de la PCSK9 humana (SEQ ID NO: 184), los presentes inventores propusieron la hipótesis de que, como se sabe que el predominio escindido de PCSK9 inmadura permanece asociado con la proteína PCSK9 madura, regiones de este predominio (SEQ ID NO: 329) también son dianas de anticuerpo candidatas para reducir los niveles de colesterol.

**MGTVSSRRS~~WW~~PLPLLLLLLLLLLGPAGARAQEDEDGDYEELVLALRSEEDGLAEAP~~EH~~GTTATFHRC~~AK~~DPWRLP  
 GTYVVVLKEETHLSQSERTARRLQAQAARRGYLTKILHVFHGLLPGLV~~KM~~SGDLLELALKLPHVDYIEEDSSVFAQ**  
 (SEQ ID NO: 329)

Se encuentran ejemplos no restrictivos, específicos, de péptidos de interés dentro de la secuencia C-terminal de la

región del predominio y secuencias y bucles expuestos en la superficie, incluyendo regiones que contienen mutaciones genéticas de pérdida de función o ganancia de función conocidas en seres humanos:

5 **VDYIEEDSSVFAQ** (SEQ ID NO: 308)  
**RCAKDPWRLPGT** (SEQ ID NO: 309)  
**AQAARRGYLTKIL** (SEQ ID NO: 310)  
**GDYEELVLALRSEEDG** (SEQ ID NO: 311)  
**FLVKMSGDLLELALKLP** (SEQ ID NO: 312)

10 Los péptidos anteriores y sus truncamientos se sintetizan con engarces añadidos en el extremo N o C (por ejemplo, CGG o GGC), o como moléculas cicladas o limitadas conformacionalmente de otra manera y se acoplan a VLP de Q $\beta$  como se ha descrito en el ejemplo 2 y se usan para inmunizar ratones y evaluar respuestas de anticuerpos contra PCSK9 como se ha descrito en el ejemplo 3.

### Ejemplo 7

15 Se conjugaron péptidos VR\_9.5 y 9.10 con VLP de Q $\beta$  o con CRM197 como se ha descrito en el ejemplo 2 y se usaron para inmunizar ratones (BALB/c o C57BL/6) usando TiterMax Gold, alumbre o alumbre CpG como adyuvante.

Se conjugó péptido derivado del virus de la Hepatitis B (aminoácidos 28-39 (IPQSLDSWWTSL)) con VLP de Q $\beta$  o con CRM197 y se usó como inmunógeno de control.

20 El procedimiento ELISA usado fue ligeramente diferente del descrito en el ejemplo 3: el procedimiento ELISA se realizó como se indica a continuación para el ELISA de PCSK9 Humano y de Ratón (Procedimiento 2): se recubrieron placas de ensayo de alta unión de 384 pocillos (Greiner bio-one 781061) con 25  $\mu$ l/pocillo de solución madre de proteína PCSK9 humana o de ratón diluida a 1  $\mu$ g/ml con PBS 1X pH 7,4 y se incubaron a 4°C durante una noche. Al día siguiente, las placas se bloquearon usando 25  $\mu$ l/pocillo de PBS 1X/Tween 20 al 0,05%/BSA al 1% y se incubaron en un agitador a TA durante 1 hora. Se preparó una dilución seriada semilogarítmica de 10 puntos de cada muestra empezando a una dilución 1:50 o 1:500 (diluyente PBS 1X/Tween 20 al 0,05%), se transfirieron 25  $\mu$ l/pocillo de la dilución seriada por duplicado a la placa recubierta con PCSK9 humana o de ratón y después se incubó con agitación a TA durante 1 hora. Después de lavar 3 veces con PBS 1X pH 7,4/Tween 20 al 0,05%, se añadieron 25  $\mu$ l/pocillo de anticuerpo de detección IgG total (IgG de Cabra Anti-Ratón ( $\gamma$ ), HRP, Invitrogen M30107) a una dilución 1:3000 con PBS 1X pH 7,4/Tween 20 al 0,05% y después se incubó con agitación a TA durante 1 hora. Después de lavar 5 veces con PBS 1X pH 7,4/Tween 20 al 0,05%, se añadieron 25  $\mu$ l/pocillo de Bio-Rad TMB Peroxidase EIA Substrate Kit (Bio-Rad N° de Cat. 172 -1067) y las placas se incubaron durante 15 minutos. Se añadieron 12,5  $\mu$ l/pocillo de ácido sulfúrico 1 N y después se leyó la absorbancia a Abs 450 nm.

35 **Resultados:** Los péptidos VR\_9.5 y 9.10 conjugados con VLP de Q $\beta$  o CRM197 pudieron inducir respuestas de anticuerpo contra la proteína PCSK9 humana y de ratón de longitud completa intacta (véanse las figuras 11 y 12). Las Figuras 13 y 14 y la Tabla 4 también muestran que los péptidos VR\_9.5 y 9.10 conjugados con diferentes vehículos y en presencia de diferentes adyuvantes conducían a una reducción de los niveles de colesterol en suero.

**Tabla 4 – Niveles de Colesterol Total en Ratones Inmunizados**

| Cepa de Ratón | Inmunógeno         | Vehículo | Adyuvante(s)  | N | Colesterol (mg/dl) |     | Estadística <sup>(a)</sup> | Estadística <sup>(b)</sup> |
|---------------|--------------------|----------|---------------|---|--------------------|-----|----------------------------|----------------------------|
|               |                    |          |               |   | Media              | EPM |                            |                            |
| BALB/c        | No tratado         | -        | -             | 8 | 106,5              | 3,0 | -                          | -                          |
|               | Péptido de control | VLP      | Alumbre + CpG | 8 | 99,0               | 2,8 | P>0,05                     | -                          |
|               | VR_9.5             | VLP      | Alumbre + CpG | 8 | 77,5               | 3,6 | P<0,001                    | P<0,001                    |
|               | VR_9.5             | VLP      | Alumbre       | 8 | 65,9               | 2,3 | P<0,001                    | P<0,001                    |
|               | VR_9.10            | VLP      | Alumbre + CpG | 8 | 85,3               | 2,4 | P<0,001                    | P<0,05                     |
|               | Péptido de control | CRM197   | TiterMax      | 8 | 96,6               | 2,3 | P>0,05                     | -                          |
|               | VR_9.5             | CRM197   | TiterMax      | 8 | 75,0               | 4,1 | P<0,001                    | P<0,001                    |
|               | VR_9.10            | CRM197   | TiterMax      | 7 | 70,9               | 2,8 | P<0,001                    | P<0,001                    |
| C57BL/6       | No tratado         | -        | -             | 8 | 83,4               | 5,8 | -                          | -                          |

(continuación)

| Cepa de Ratón | Inmunógeno         | Vehículo | Adyuvante(s)  | N | Colesterol (mg/dl) |     | Estadística <sup>(a)</sup> | Estadística <sup>(b)</sup> |
|---------------|--------------------|----------|---------------|---|--------------------|-----|----------------------------|----------------------------|
|               | Péptido de control | VLP      | Alumbre + CpG | 8 | 81,0               | 3,7 | P>0,05                     | -                          |
|               | VR_9.5             | VLP      | Alumbre + CpG | 8 | 59,7               | 2,8 | P<0,001                    | P<0,01                     |
|               | VR_9.5             | VLP      | Alumbre       | 8 | 59,5               | 1,5 | P<0,001                    | P<0,01                     |
|               | VR_9.10            | VLP      | Alumbre + CpG | 8 | 64,5               | 2,7 | P<0,01                     | P<0,05                     |
|               | Péptido de control | CRM197   | TiterMax      | 8 | 71,5               | 1,7 | P>0,05                     | -                          |
|               | VR_9.5             | CRM197   | TiterMax      | 8 | 58,7               | 4,1 | P<0,001                    | P>0,05                     |
|               | VR_9.10            | CRM197   | TiterMax      | 8 | 63,8               | 3,4 | P<0,01                     | P>0,05                     |

Estadística<sup>(a)</sup>: comparación estadística ANOVA de 1 vía con ensayo post-hoc de Tukey que presenta valores p de grupos de ensayo frente a no tratados.  
 Estadística<sup>(b)</sup>: Comparación estadística ANOVA de 1 vía con ensayo post-hoc de Tukey que presenta valores p de grupos de ensayo frente a péptido de control-vehículo correspondiente.

**Ejemplo 8**

5 Se eligieron péptidos adicionales (SEQ ID NO 312, 420, 421, 422, 423, 425, 426, 427, 428, 445, 482, 525 y 563) a partir de los dos predomios y la región C terminal del dominio catalítico de PCSK9 para la exposición a la superficie y la asociación con mutaciones de ganancia de función o pérdida de función identificadas en seres humanos. Las series resultantes de secuencias peptídicas de la estrategia descrita anteriormente se modificaron por la adición de aminoácidos para permitir la conjugación química y se evaluaron como candidatos de vacuna (Tabla 5 péptidos 9.23-9.35).

10

**Tabla 5** – Secuencias de péptidos

| Péptido | Secuencia      | Especies           | SEQ ID NO |
|---------|----------------|--------------------|-----------|
| VR_9.5  | SIPWNLERITPC   | Ser humano         | 317       |
| VR_9.10 | SIPWNLERIIPC   | Ratón              | 322       |
| VR_9.17 | SIPWNLERIGGC   | Ser humano y Ratón | 401       |
| VR_9.18 | SIPWNLERGGC    | Ser humano y Ratón | 402       |
| VR_9.19 | SIPWNLEGGC     | Ser humano y Ratón | 403       |
| VR_9.20 | CGGSGRDAGVAKGA | Ser humano         | 404       |
| VR_9.21 | CGGSGRDAGVAKGT | Ratón              | 405       |
| VR_9.22 | RDAGVAKGGC     | Ser humano         | 406       |
| VR_9.23 | CSRHLAQASQELQ  | Ser humano         | 407       |
| VR_9.24 | CRSRPSAKASWVQ  | Ratón              | 408       |
| VR_9.25 | CGGDYEELVLALR  | Ser humano         | 409       |
| VR_9.26 | CGGDYEELMLALP  | Ratón              | 410       |
| VR_9.27 | LVLALRSEEDGGC  | Ser humano         | 411       |
| VR_9.28 | LMLALPSQEDGGC  | Ratón              | 412       |
| VR_9.29 | AKDPWRLPGGC    | Ser humano         | 413       |
| VR_9.30 | SKEAWRLPGGC    | Ratón              | 414       |
| VR_9.31 | CGGAARRGYLTK   | Ser humano         | 415       |

(continuación)

| Péptido | Secuencia                    | Especies   | SEQ ID NO |
|---------|------------------------------|------------|-----------|
| VR_9.32 | <u>CGGA</u> AARRGYVIK        | Ratón      | 416       |
| VR_9.33 | FLVKMSGDLLELALKLP <u>GGC</u> | Ser humano | 417       |
| VR_9.34 | FLVKMSSDLLGLALKLP <u>GGC</u> | Ratón      | 418       |
| VR_9.35 | <u>CGGEEDSSV</u> FAQ         | Ser humano | 419       |

Los restos subrayados indican aminoácidos añadidos con fines de conjugación

**Ejemplo 9**

5 Los péptidos VR\_9.17 a VR\_9.35 (así como VR\_9.5) se conjugaron con VLP de Qβ como se ha descrito en el ejemplo 2 y se usaron para inmunizar ratones para evaluar respuestas de anticuerpo contra PCSK9 como se ha descrito en el ejemplo 3. El péptido derivado del virus de la hepatitis B (aminoácidos 28-39 (IPQSLDSWWTSL)) se conjugó con un VLP de Qβ y se usó como inmunógeno de control. Para el ELISA se usó el Procedimiento N° 2.

10 **Resultado:** Como se muestra en las figuras 15 y 16, la mayoría de los péptidos conjugados con VLP de Qβ pudieron inducir respuestas de anticuerpo contra PCSK9 de longitud completa intacta. No se detectó ninguna respuesta de anticuerpo para los péptidos 9.31 y 9.32. En ciertos casos (péptidos 9.23, 9.24, 9.27, 9.28, 9.29, 9.30, 9.33 y 9.34), las respuestas de anticuerpo fueron específicas de especie. La inmunización con péptidos 9.5, 9.18 y 9.29 también dio como resultado una reducción del colesterol en suero, mientras que la inmunización con péptidos 9.17, 9.19, 9.30, 9.31 y 9.32 dio como resultado una tendencia a un nivel de colesterol reducido (Tabla 6, figura 17).

**Tabla 6 Niveles de Colesterol Total en Ratones Inmunizados**

| Cepa de Ratón | Inmunógeno         | Vehículo      | Adyuvante(s)  | N    | Colesterol (mg/dl) |        | Estadística <sup>(a)</sup> | Estadística <sup>(b)</sup> |
|---------------|--------------------|---------------|---------------|------|--------------------|--------|----------------------------|----------------------------|
|               |                    |               |               |      | Media              | EPM    |                            |                            |
| BALB/c        | No tratado         | -             | -             | 8    | 77,7               | 5,5    | -                          | -                          |
|               | Péptido de control | VLP           | Alumbre + CpG | 4    | 78,1               | 1,2    | P>0,05                     | -                          |
|               | VR_9.5             | VLP           | Alumbre + CpG | 8    | 65,8               | 1,1    | <b>P&lt;0,05</b>           | P>0,05                     |
|               | VR_9.17            | VLP           | Alumbre + CpG | 8    | 70,4               | 2,1    | P>0,05                     | P>0,05                     |
|               | VR_9.18            | VLP           | Alumbre + CpG | 8    | 65,9               | 1,6    | <b>P&lt;0,05</b>           | P>0,05                     |
|               | VR_9.19            | VLP           | Alumbre + CpG | 8    | 71,7               | 1,7    | P>0,05                     | P>0,05                     |
|               | VR_9.20            | VLP           | Alumbre + CpG | 7    | 85,2               | 4,0    | P>0,05                     | P>0,05                     |
|               | VR_9.21            | VLP           | Alumbre + CpG | 8    | 77,1               | 2,0    | P>0,05                     | P>0,05                     |
|               | VR_9.22            | VLP           | Alumbre + CpG | 8    | 84,5               | 2,6    | P>0,05                     | P>0,05                     |
|               | VR_9.23            | VLP           | Alumbre + CpG | 8    | 79,0               | 1,8    | P>0,05                     | P>0,05                     |
|               | VR_9.24            | VLP           | Alumbre + CpG | 8    | 76,9               | 2,1    | P>0,05                     | P>0,05                     |
|               | VR_9.25            | VLP           | Alumbre + CpG | 8    | 77,3               | 2,5    | P>0,05                     | P>0,05                     |
|               | VR_9.26            | VLP           | Alumbre + CpG | 8    | 79,2               | 2,2    | P>0,05                     | P>0,05                     |
|               | VR_9.27            | VLP           | Alumbre + CpG | 8    | 71,8               | 3,4    | P>0,05                     | P>0,05                     |
|               | VR_9.28            | VLP           | Alumbre + CpG | 8    | 76,6               | 2,2    | P>0,05                     | P>0,05                     |
|               | VR_9.29            | VLP           | Alumbre + CpG | 8    | 67,0               | 1,6    | <b>P&lt;0,05</b>           | P>0,05                     |
| VR_9.30       | VLP                | Alumbre + CpG | 8             | 70,4 | 2,3                | P>0,05 | P>0,05                     |                            |

15

ES 2 670 576 T3

(continuación)

| Cepa de Ratón | Inmunógeno | Vehículo | Adyuvante(s)  | N | Colesterol (mg/dl) |     | Estadística <sup>(a)</sup> | Estadística <sup>(b)</sup> |
|---------------|------------|----------|---------------|---|--------------------|-----|----------------------------|----------------------------|
|               |            |          |               |   |                    |     |                            |                            |
|               | VR_9.31    | VLP      | Alumbre + CpG | 8 | 71,0               | 1,7 | P>0,05                     | P>0,05                     |
|               | VR_9.32    | VLP      | Alumbre + CpG | 8 | 72,8               | 1,0 | P>0,05                     | P>0,05                     |
|               | VR_9.33    | VLP      | Alumbre + CpG | 8 | 75,5               | 2,2 | P>0,05                     | P>0,05                     |

Estadística<sup>(a)</sup>: comparación estadística ANOVA de 1 vía con ensayo post-hoc de Bonferroni que presenta valores p de grupos de ensayo frente a grupo no tratado.  
 Estadística<sup>(b)</sup>: Comparación estadística ANOVA de 1 vía con ensayo post-hoc de Bonferroni que presenta valores p de grupos de ensayo frente a grupo de péptido de control.

Lista de secuencias:

|              |               |              |                |
|--------------|---------------|--------------|----------------|
| SEQ ID No 1  | IGASSDCSTCFVS | SEQ ID No 53 | DGTRFHRQASKCDS |
| SEQ ID No 2  | IGASSDCSTCFV  | SEQ ID No 54 | DGTRFHRQASKCD  |
| SEQ ID No 3  | IGASSDCSTCF   | SEQ ID No 55 | DGTRFHRQASKC   |
| SEQ ID No 4  | IGASSDCSTC    | SEQ ID No 56 | DGTRFHRQASK    |
| SEQ ID No 5  | IGASSDCST     | SEQ ID No 57 | DGTRFHRQAS     |
| SEQ ID No 6  | IGASSDCS      | SEQ ID No 58 | DGTRFHRQA      |
| SEQ ID No 7  | IGASSDC       | SEQ ID No 59 | DGTRFHRQ       |
| SEQ ID No 8  | IGASSD        | SEQ ID No 60 | GTRFHRQASKCDS  |
| SEQ ID No 9  | IGASS         | SEQ ID No 61 | GTRFHRQASKCD   |
| SEQ ID No 10 | GASSDCSTCFVS  | SEQ ID No 62 | GTRFHRQASKC    |
| SEQ ID No 11 | GASSDCSTCFV   | SEQ ID No 63 | GTRFHRQASK     |
| SEQ ID No 12 | GASSDCSTCF    | SEQ ID No 64 | GTRFHRQAS      |
| SEQ ID No 13 | GASSDCSTC     | SEQ ID No 65 | GTRFHRQA       |
| SEQ ID No 14 | GASSDCST      | SEQ ID No 66 | GTRFHRQ        |
| SEQ ID No 15 | GASSDCS       | SEQ ID No 67 | TRFHRQASKCDS   |
| SEQ ID No 16 | GASSDC        | SEQ ID No 68 | TRFHRQASKCD    |
| SEQ ID No 17 | GASSD         | SEQ ID No 69 | TRFHRQASKC     |
| SEQ ID No 18 | ASSDCSTCFVS   | SEQ ID No 70 | TRFHRQASK      |
| SEQ ID No 19 | ASSDCSTCFV    | SEQ ID No 71 | TRFHRQAS       |
| SEQ ID No 20 | ASSDCSTCF     | SEQ ID No 72 | TRFHRQA        |
| SEQ ID No 21 | ASSDCSTC      | SEQ ID No 73 | TRFHRQ         |
| SEQ ID No 22 | ASSDCST       | SEQ ID No 74 | RFHRQASKCDS    |
| SEQ ID No 23 | ASSDCS        | SEQ ID No 75 | RFHRQASKCD     |
| SEQ ID No 24 | ASSDC         | SEQ ID No 76 | RFHRQASKC      |
| SEQ ID No 25 | SSDCSTCFVS    | SEQ ID No 77 | RFHRQASK       |
| SEQ ID No 26 | SSDCSTCFV     | SEQ ID No 78 | RFHRQAS        |



(continuación)

|              |                 |               |                |
|--------------|-----------------|---------------|----------------|
| SEQ ID No 27 | SSDCSTCF        | SEQ ID No 79  | RFHRQA         |
| SEQ ID No 28 | SSDCSTC         | SEQ ID No 80  | RFHRQ          |
| SEQ ID No 29 | SSDCST          | SEQ ID No 81  | FHRQASKCDS     |
| SEQ ID No 30 | SSDCS           | SEQ ID No 82  | FHRQASKCD      |
| SEQ ID No 31 | SDCSTCFVS       | SEQ ID No 83  | FHRQASKC       |
| SEQ ID No 32 | SDCSTCFV        | SEQ ID No 84  | FHRQASK        |
| SEQ ID No 33 | SDCSTCF         | SEQ ID No 85  | FHRQAS         |
| SEQ ID No 34 | SDCSTC          | SEQ ID No 86  | FHRQA          |
| SEQ ID No 35 | SDCST           | SEQ ID No 87  | HRQASKCDS      |
| SEQ ID No 36 | DCSTCFVS        | SEQ ID No 88  | HRQASKCD       |
| SEQ ID No 37 | DCSTCFV         | SEQ ID No 89  | HRQASKC        |
| SEQ ID No 38 | DCSTCF          | SEQ ID No 90  | HRQASK         |
| SEQ ID No 39 | DCSTC           | SEQ ID No 91  | HRQAS          |
| SEQ ID No 40 | CSTCFVS         | SEQ ID No 92  | RQASKCDS       |
| SEQ ID No 41 | CSTCFV          | SEQ ID No 93  | RQASKCD        |
| SEQ ID No 42 | CSTCF           | SEQ ID No 94  | RQASKC         |
| SEQ ID No 43 | STCFVS          | SEQ ID No 95  | RQASK          |
| SEQ ID No 44 | STCFV           | SEQ ID No 96  | QASKCDS        |
| SEQ ID No 45 | TCFVS           | SEQ ID No 97  | QASKCD         |
| SEQ ID No 46 | EDGTRFHRQASKCDS | SEQ ID No 98  | QASKC          |
| SEQ ID No 47 | EDGTRFHRQASKCD  | SEQ ID No 99  | ASKCDS         |
| SEQ ID No 48 | EDGTRFHRQASKC   | SEQ ID No 100 | ASKCD          |
| SEQ ID No 49 | EDGTRFHRQASK    | SEQ ID No 101 | SKCDS          |
| SEQ ID No 50 | EDGTRFHRQAS     | SEQ ID No 102 | SIQSDHREIEGRVM |
| SEQ ID No 51 | EDGTRFHRQA      | SEQ ID No 103 | SIQSDHREIEGRV  |
| SEQ ID No 52 | EDGTRFHRQ       | SEQ ID No 104 | SIQSDHREIEGR   |

(continuación)

|               |               |               |             |
|---------------|---------------|---------------|-------------|
| SEQ ID No 105 | SIQSDHREIEG   | SEQ ID No 156 | SGRDAGVA    |
| SEQ ID No 106 | SIQSDHREIE    | SEQ ID No 157 | GRDAGVAKGAS |
| SEQ ID No 107 | SIQSDHREI     | SEQ ID No 158 | GRDAGVAKGA  |
| SEQ ID No 108 | IQSDHREIEGRVM | SEQ ID No 159 | GRDAGVAKG   |
| SEQ ID No 109 | IQSDHREIEGRV  | SEQ ID No 160 | GRDAGVAK    |
| SEQ ID No 110 | IQSDHREIEGR   | SEQ ID No 161 | GRDAGVA     |
| SEQ ID No 111 | IQSDHREIEG    | SEQ ID No 162 | RDAGVAKGAS  |
| SEQ ID No 112 | IQSDHREIE     | SEQ ID No 163 | RDAGVAKGA   |
| SEQ ID No 113 | IQSDHREI      | SEQ ID No 164 | RDAGVAKG    |
| SEQ ID No 114 | QSDHREIEGRVM  | SEQ ID No 165 | RDAGVAK     |
| SEQ ID No 115 | QSDHREIEGRV   | SEQ ID No 166 | RDAGVA      |
| SEQ ID No 116 | QSDHREIEGR    | SEQ ID No 167 | DAGVAKGAS   |
| SEQ ID No 117 | QSDHREIEG     | SEQ ID No 168 | DAGVAKGA    |
| SEQ ID No 118 | QSDHREIE      | SEQ ID No 169 | DAGVAKG     |
| SEQ ID No 119 | QSDHREI       | SEQ ID No 170 | DAGVAK      |
| SEQ ID No 120 | SDHREIEGRVM   | SEQ ID No 171 | DAGVA       |
| SEQ ID No 121 | SDHREIEGRV    | SEQ ID No 172 | AGVAKGAS    |
| SEQ ID No 122 | SDHREIEGR     | SEQ ID No 173 | AGVAKGA     |
| SEQ ID No 123 | SDHREIEG      | SEQ ID No 174 | AGVAKG      |
| SEQ ID No 124 | SDHREIE       | SEQ ID No 175 | AGVAK       |
| SEQ ID No 125 | SDHREI        | SEQ ID No 176 | GVAKGAS     |
| SEQ ID No 126 | DHREIEGRVM    | SEQ ID No 177 | GVAKGA      |
| SEQ ID No 127 | DHREIEGRV     | SEQ ID No 178 | GVAKG       |
| SEQ ID No 128 | DHREIEGR      | SEQ ID No 179 | VAKGAS      |
| SEQ ID No 129 | DHREIEG       | SEQ ID No 180 | VAKGA       |
| SEQ ID No 130 | DHREIE        | SEQ ID No 181 | AKGAS       |

(continuación)

|               |               |               |               |
|---------------|---------------|---------------|---------------|
| SEQ ID No 131 | DHREI         | SEQ ID No 182 | SIPWNLERITPPR |
| SEQ ID No 132 | HREIEGRVM     | SEQ ID No 183 | SIPWNLERITPP  |
| SEQ ID No 133 | HREIEGRV      | SEQ ID No 184 | SIPWNLERITP   |
| SEQ ID No 134 | HREIEGR       | SEQ ID No 185 | SIPWNLERIT    |
| SEQ ID No 135 | HREIEG        | SEQ ID No 186 | SIPWNLERI     |
| SEQ ID No 136 | HREIE         | SEQ ID No 187 | SIPWNLER      |
| SEQ ID No 137 | REIEGRVM      | SEQ ID No 188 | SIPWNLE       |
| SEQ ID No 138 | REIEGRV       | SEQ ID No 189 | SIPWNL        |
| SEQ ID No 139 | REIEGR        | SEQ ID No 190 | SIPWN         |
| SEQ ID No 140 | REIEG         | SEQ ID No 191 | IPWNLERITPPR  |
| SEQ ID No 141 | EIEGRVM       | SEQ ID No 192 | IPWNLERITPP   |
| SEQ ID No 142 | EIEGRV        | SEQ ID No 193 | IPWNLERITP    |
| SEQ ID No 143 | EIEGR         | SEQ ID No 194 | IPWNLERIT     |
| SEQ ID No 144 | IEGRVM        | SEQ ID No 195 | IPWNLERI      |
| SEQ ID No 145 | IEGRV         | SEQ ID No 196 | IPWNLER       |
| SEQ ID No 146 | EGRVM         | SEQ ID No 197 | IPWNLE        |
| SEQ ID No 147 | VSGRDAGVAKGAS | SEQ ID No 198 | IPWNL         |
| SEQ ID No 148 | VSGRDAGVAKGA  | SEQ ID No 199 | PWNLERITPPR   |
| SEQ ID No 149 | VSGRDAGVAKG   | SEQ ID No 200 | PWNLERITPP    |
| SEQ ID No 150 | VSGRDAGVAK    | SEQ ID No 201 | PWNLERITP     |
| SEQ ID No 151 | VSGRDAGVA     | SEQ ID No 202 | PWNLERIT      |
| SEQ ID No 152 | SGRDAGVAKGAS  | SEQ ID No 203 | PWNLERI       |
| SEQ ID No 153 | SGRDAGVAKGA   | SEQ ID No 204 | PWNLER        |
| SEQ ID No 154 | SGRDAGVAKG    | SEQ ID No 205 | PWNLE         |
| SEQ ID No 155 | SGRDAGVAK     | SEQ ID No 206 | WNLERITPPR    |
| SEQ ID No 207 | WNLERITPP     | SEQ ID No 258 | PVTLGT        |

(continuación)

|               |              |               |               |
|---------------|--------------|---------------|---------------|
| SEQ ID No 208 | WNLERITP     | SEQ ID No 259 | PVTLG         |
| SEQ ID No 209 | WNLERIT      | SEQ ID No 260 | VTLGTL        |
| SEQ ID No 210 | WNLERI       | SEQ ID No 261 | VTLGT         |
| SEQ ID No 211 | WNLER        | SEQ ID No 262 | TLGTL         |
| SEQ ID No 212 | NLERITPPR    | SEQ ID No 263 | INEAWFPEDQRVL |
| SEQ ID No 213 | NLERITPP     | SEQ ID No 264 | INEAWFPEDQRV  |
| SEQ ID No 214 | NLERITP      | SEQ ID No 265 | INEAWFPEDQR   |
| SEQ ID No 215 | NLERIT       | SEQ ID No 266 | INEAWFPEDQ    |
| SEQ ID No 216 | NLERI        | SEQ ID No 267 | INEAWFPED     |
| SEQ ID No 217 | LERITPPR     | SEQ ID No 268 | INEAWFPE      |
| SEQ ID No 218 | LERITPP      | SEQ ID No 269 | INEAWFP       |
| SEQ ID No 219 | LERITP       | SEQ ID No 270 | INEAWF        |
| SEQ ID No 220 | LERIT        | SEQ ID No 271 | INEAW         |
| SEQ ID No 221 | ERITPPR      | SEQ ID No 272 | NEAWFPEDQRVL  |
| SEQ ID No 222 | ERITPP       | SEQ ID No 273 | NEAWFPEDQRV   |
| SEQ ID No 223 | ERITP        | SEQ ID No 274 | NEAWFPEDQR    |
| SEQ ID No 224 | RITPPR       | SEQ ID No 275 | NEAWFPEDQ     |
| SEQ ID No 225 | RITPP        | SEQ ID No 276 | NEAWFPED      |
| SEQ ID No 226 | ITPPR        | SEQ ID No 277 | NEAWFPE       |
| SEQ ID No 227 | NAQDQPVTGTL  | SEQ ID No 278 | NEAWFP        |
| SEQ ID No 228 | NAQDQPVTGTLG | SEQ ID No 279 | NEAWF         |
| SEQ ID No 229 | NAQDQPVTLG   | SEQ ID No 280 | EAWFPEDQRVL   |
| SEQ ID No 230 | NAQDQPVTL    | SEQ ID No 281 | EAWFPEDQRV    |
| SEQ ID No 231 | NAQDQPVT     | SEQ ID No 282 | EAWFPEDQR     |
| SEQ ID No 232 | NAQDQPV      | SEQ ID No 283 | EAWFPEDQ      |
| SEQ ID No 233 | NAQDQP       | SEQ ID No 284 | EAWFPED       |

(continuación)

|               |               |               |               |
|---------------|---------------|---------------|---------------|
| SEQ ID No 234 | NAQDQ         | SEQ ID No 285 | EAWFPE        |
| SEQ ID No 235 | AQDQPVTLGTL   | SEQ ID No 286 | EAWFP         |
| SEQ ID No 236 | AQDQPVTLTGT   | SEQ ID No 287 | AWFPEDQRVL    |
| SEQ ID No 237 | AQDQPVTLTG    | SEQ ID No 288 | AWFPEDQRV     |
| SEQ ID No 238 | AQDQPVTL      | SEQ ID No 289 | AWFPEDQR      |
| SEQ ID No 239 | AQDQPVT       | SEQ ID No 290 | AWFPEDQ       |
| SEQ ID No 240 | AQDQPV        | SEQ ID No 291 | AWFPED        |
| SEQ ID No 241 | AQDQP         | SEQ ID No 292 | AWFPE         |
| SEQ ID No 242 | QDQPVTLTGTL   | SEQ ID No 293 | WFPEQQRVL     |
| SEQ ID No 243 | QDQPVTLTGT    | SEQ ID No 294 | WFPEQQRV      |
| SEQ ID No 244 | QDQPVTLTG     | SEQ ID No 295 | WFPEQQR       |
| SEQ ID No 245 | QDQPVTL       | SEQ ID No 296 | WFPEQ         |
| SEQ ID No 246 | QDQPVT        | SEQ ID No 297 | WFPE          |
| SEQ ID No 247 | QDQPV         | SEQ ID No 298 | FPEQQRVL      |
| SEQ ID No 248 | DQPVTLTGTL    | SEQ ID No 299 | FPEQQRV       |
| SEQ ID No 249 | DQPVTLTGT     | SEQ ID No 300 | FPEQQR        |
| SEQ ID No 250 | DQPVTLG       | SEQ ID No 301 | FPEQ          |
| SEQ ID No 251 | DQPVTL        | SEQ ID No 302 | PEDQRVL       |
| SEQ ID No 252 | DQPVT         | SEQ ID No 303 | PEDQRV        |
| SEQ ID No 253 | QPVTLTGTL     | SEQ ID No 304 | PEDQR         |
| SEQ ID No 254 | QPVTLTGT      | SEQ ID No 305 | EDQRVL        |
| SEQ ID No 255 | QPVTLG        | SEQ ID No 306 | EDQRV         |
| SEQ ID No 256 | QPVTL         | SEQ ID No 307 | DQRVL         |
| SEQ ID No 257 | PVTLTGTL      | SEQ ID No 308 | VDYIEEDSSVFAQ |
| SEQ ID No 309 | RCAKDPWRLPGT  | SEQ ID No 319 | AGCGTRFHRQ    |
| SEQ ID No 310 | AQAARRGYLTKIL | SEQ ID No 320 | GRVCIQSDHREIE |

(continuación)

|               |  |               |                  |
|---------------|--|---------------|------------------|
| SEQ ID No 311 | GDYEELVLAIRSEEDG   | SEQ ID No 321 | AGVAKGAGCSGRD    |
| SEQ ID No 312 | FLVKMSGDLLELALKLP  | SEQ ID No 322 | SIPWNLERIIPC     |
| SEQ ID No 313 | KGGASSDCSTCFV  | SEQ ID No 323 | CGGSIPWNLERIIP   |
| SEQ ID No 314 | CGGTRFHRQASKC  | SEQ ID No 324 | SIPWNLERIIPGGC   |
| SEQ ID No 315 | CGIQSDHREIEGRVC  | SEQ ID No 325 | CGGNAQDQPVTGLTL  |
| SEQ ID No 316 | CSGRDAGVAKGAC  | SEQ ID No 326 | NAQDQPVTGLTGGC   |
| SEQ ID No 317 | SIPWNLERITPC   | SEQ ID No 327 | CGGINMAWFPEDQQVL |
| SEQ ID No 318 | ASKCGDGTRFHRQ  | SEQ ID No 328 | NMAWFPEDQQVLGGC  |
| SEQ ID No 329 | MGTVSSRRSWPFLPLLLLLLLGGPAGARAQEDDGDYEELVLAIRSEEDGLAEAPEHGTATFHC<br>RCAKDPWRLPGTYVVVLKEETHLSQSERTARLQAQAARRGYLTKILHVFHGLLPGLVKMSGDL<br>LELALKLPHVDYIEEDSSVFAQ |               |                  |
| SEQ ID No 330 | SIPWNLERIIPAW  | SEQ ID No 369 | NMAWFPEDQQVL     |
| SEQ ID No 331 | SIPWNLERIIPA   | SEQ ID No 370 | NMAWFPEDQQV      |
| SEQ ID No 332 | SIPWNLERIIP  | SEQ ID No 371 | NMAWFPEDQQ       |
| SEQ ID No 333 | SIPWNLERI  | SEQ ID No 372 | NMAWFPEDQ        |
| SEQ ID No 334 | IPWNLERIIPAW   | SEQ ID No 373 | NMAWFPED         |
| SEQ ID No 335 | IPWNLERIIPAW   | SEQ ID No 374 | NMAWFPE          |
| SEQ ID No 336 | IPWNLERIIP   | SEQ ID No 375 | NMAWFP           |
| SEQ ID No 337 | IPWNLERII  | SEQ ID No 376 | NMAWF            |
| SEQ ID No 338 | PWNLERII PAW   | SEQ ID No 377 | MAWFPEDQQVL      |
| SEQ ID No 339 | PWNLERII PA  | SEQ ID No 378 | MAWFPEDQQV       |
| SEQ ID No 340 | PWNLERIIP  | SEQ ID No 379 | MAWFPEDQQ        |
| SEQ ID No 341 | PWNLERI  | SEQ ID No 380 | MAWFPEDQ         |
| SEQ ID No 342 | WNLERII PAW  | SEQ ID No 381 | MAWFPED          |
| SEQ ID No 343 | WNLERII PA   | SEQ ID No 382 | MAWFPE           |
| SEQ ID No 344 | WNLERIIP   | SEQ ID No 383 | MAWFP            |

(continuación)

|               |               |               |            |
|---------------|---------------|---------------|------------|
| SEQ ID No 345 | WNLRII        | SEQ ID No 384 | AWFPEDQQVL |
| SEQ ID No 346 | NLERIIPAW     | SEQ ID No 385 | AWFPEDQQV  |
| SEQ ID No 347 | NLERII PA     | SEQ ID No 386 | AWFPEDQQ   |
| SEQ ID No 348 | NLERIIP       | SEQ ID No 387 | WFPEDQQVL  |
| SEQ ID No 349 | NLERII        | SEQ ID No 388 | WFPEDQQV   |
| SEQ ID No 350 | LERIIPAW      | SEQ ID No 389 | WFPEDQQ    |
| SEQ ID No 351 | LERIIPA       | SEQ ID No 390 | FPEDEQQVL  |
| SEQ ID No 352 | LERIIP        | SEQ ID No 391 | FPEDEQQV   |
| SEQ ID No 353 | LERII         | SEQ ID No 392 | FPEDEQQ    |
| SEQ ID No 354 | ERIIPAW       | SEQ ID No 393 | PEDQQVL    |
| SEQ ID No 355 | ERIIPA        | SEQ ID No 394 | PEDQQV     |
| SEQ ID No 356 | ERIIP         | SEQ ID No 395 | PEDQQ      |
| SEQ ID No 357 | RIIPAW        | SEQ ID No 396 | EDQQVL     |
| SEQ ID No 358 | RIIPA         | SEQ ID No 397 | EDQQV      |
| SEQ ID No 359 | IIPAW         | SEQ ID No 398 | DQQVL      |
| SEQ ID No 360 | INMAWFPEDQQVL |               |            |
| SEQ ID No 361 | INMAWFPEDQQV  |               |            |
| SEQ ID No 362 | INMAWFPEDQQ   |               |            |
| SEQ ID No 363 | INMAWFPEDQ    |               |            |
| SEQ ID No 364 | INMAWFPED     |               |            |
| SEQ ID No 365 | INMAWFPE      |               |            |
| SEQ ID No 366 | INMAWFP       |               |            |
| SEQ ID No 367 | INMAWF        |               |            |
| SEQ ID No 368 | INMAW         |               |            |

(continuación)

|               |   |               |             |
|---------------|---|---------------|-------------|
| SEQ ID No 399 | MGTVSSRRSWWPLPLLLLLLLGPPAGARAQEDDEGDYEEELVIALRSEEDGLAEAPEHGTTATFFH<br>RCAKDPWRLPGTYVVVVKKEETHLSQSERTARRLOQAARRGYLTKILHVFHGLLPGFLVKMSGDL<br>LELALKLPHVDYIEEDSVFAQSIPWNLERITPPRYRADEYQPPDGGSLVEVYLLDTSIQSDHRE<br>IEGRVMVDFENVPEEDGTRFHRQASKDCHGTHLAGVSGRDAGVAKGASMRSLRVLCQKKG<br>VSGTLIGLEFIRKSQLVQVPLVLLPLAGGYSRVLNAACQRLARAGVLLVTAAGNFRDDACLY<br>SPASAPEVITVGATNAQDQVTLGTGNFGRCVDLFAPEGEDIIGASSDCSTCFVSQSGTSQAAA<br>HVAGIAAMMLSAEPLELTLAELRQRLIHFSKADVINEAWFPEDQRVLTPLNVAALPPSTHGAGWQL<br>FCRTVWSAHSGPTRMATAVARCAPDEELLSGSSFRSGKRRGERMEAQGGKLVCRANAFGGEGV<br>YAIARCCLLPQANCSVHTAPPAAEASMGTRVHCHQGHVLTGCSSSHWEVEDLGTHTKPPVLRPRGQP<br>NQCVDGHRREASIHASCCHAPGLECKVKEHGIAPAQEQVTVACEEGWTLTGCSALPFGTSHVLGAYAV<br>DNTCVVRSRDVSTGTSTSEGAVTAVAICCRSHLAQASQELQ |               |             |
| SEQ ID No 400 | MGTHCSAWLRWPLPLPLPLLLLLLLCPTGAGAQDEDDGYEELMLALPSQEDGLADEAAHVATA<br>TFRRCSEAWRLPGTYIVVIMEETQRLQIEQTAHRLQTRAARRGYVIKVLHIFYDLFPGLVKMS<br>SDLLGLALKLPHVEYIEEDSVFAQSIPWNLERITPAWHQTEEDRSPDGSSQVEVYLLDTSIQGA<br>HREIEGRVITDFNSVPEEDGTRFHRQASKDCHGTHLAGVSGRDAGVAKGTSLSLRVLCNCOG<br>KGTVSGTLIGLEFIRKSQLIQSPGPLVLLPLAGGYSRILNAACRHLARTGVLLVAAAGNFRDDA<br>CLYSPASAPEVITVGATNAQDQVTLGTGNFGRCVDLFAPEGEDIIGASSDCSTCFVSQSGTSQ<br>AAHVAGIVARMLSRPPLTLAELRQRLIHFTKDVINMAWFPEDQVLTPLNVAALPPSTHETG<br>GQLLCRTVWSAHSGPTRMATAVARCAPDEELLSGSSFRSGKRRGERMEAQGGKLVCRANAFGGEGV<br>EGYAVARCCCLVPRANCSIHNTPAARAGLETHVHCHQKHVLTGCSFHWEEVDELSVRRQPALRSR<br>RQPGQCVGHQAASVYASCCHAPGLECKVKEHGIAPAQEQVTVACEEGWTLTGCSALPFGTSHVLGAYAV<br>YSVDNLCVARVHDTARADRTSGEATVAAAICCRSRPSAKASWVQ  |               |             |
| SEQ ID No 401 | SIPWNLERIGGC  | SEQ ID No 434 | RCAKDP      |
| SEQ ID No 402 | SIPWNLERGGC   | SEQ ID No 435 | RCAKD       |
| SEQ ID No 403 | SIPWNLEGGC  | SEQ ID No 436 | CAKDPWRLPGT |
| SEQ ID No 404 | CGGSGRDAGVAKGA  | SEQ ID No 437 | CAKDPWRLPG  |
| SEQ ID No 405 | CGGSGRDAGVAKGT  | SEQ ID No 438 | CAKDPWRLP   |
| SEQ ID No 406 | RDAGVAKGGC  | SEQ ID No 439 | CAKDPWRL    |
| SEQ ID No 407 | CSRHLAQASQELQ   | SEQ ID No 440 | CAKDPWR     |
| SEQ ID No 408 | CRSRPSAKASWVQ   | SEQ ID No 441 | CAKDPW      |
| SEQ ID No 409 | CGGDYEEELVLR  | SEQ ID No 442 | CAKDP       |
| SEQ ID No 410 | CGGDYEEELMLALP  | SEQ ID No 443 | AKDPWRLPGT  |



(continuación)

|               |                      |               |              |
|---------------|----------------------|---------------|--------------|
| SEQ ID No 411 | LVLALRSEEDGGC        | SEQ ID No 444 | AKDPWRLPG    |
| SEQ ID No 412 | LMLALPSQEDGGC        | SEQ ID No 445 | AKDPWRLP     |
| SEQ ID No 413 | AKDPWRLPGGC          | SEQ ID No 446 | AKDPWRL      |
| SEQ ID No 414 | SKEAWRLPGGC          | SEQ ID No 447 | AKDPWR       |
| SEQ ID No 415 | CGGAARRGYLTK         | SEQ ID No 448 | AKDPW        |
| SEQ ID No 416 | CGGAARRGYVIK         | SEQ ID No 449 | KDPWRLPGT    |
| SEQ ID No 417 | FLVKMSGDLLELALPLPGGC | SEQ ID No 450 | KDPWRLPG     |
| SEQ ID No 418 | FLVKMSSDLLGLALPLPGGC | SEQ ID No 451 | KDPWRLP      |
| SEQ ID No 419 | CGGEEDSSVFAQ         | SEQ ID No 452 | KDPWRL       |
| SEQ ID No 420 | SRHLAQASQELQ         | SEQ ID No 453 | KDPWR        |
| SEQ ID No 421 | DYEELVLALR           | SEQ ID No 454 | DPWRLPGT     |
| SEQ ID No 422 | LVLALRSEEDG          | SEQ ID No 455 | DPWRLPG      |
| SEQ ID No 423 | EEDSSVFAQ            | SEQ ID No 456 | DPWRLP       |
| SEQ ID No 424 | SGRDAGVAKGT          | SEQ ID No 457 | DPWRL        |
| SEQ ID No 425 | RSRPSAKASWVQ         | SEQ ID No 458 | PWRLPGT      |
| SEQ ID No 426 | GDYEELMLALP          | SEQ ID No 459 | PWRLPG       |
| SEQ ID No 427 | LMLALPSQED           | SEQ ID No 460 | PWRLP        |
| SEQ ID No 428 | FLVKMSSDLLGLALPLP    | SEQ ID No 461 | WRLPGT       |
| SEQ ID No 429 | RCAKDPWRLPG          | SEQ ID No 462 | WRLPG        |
| SEQ ID No 430 | RCAKDPWRLP           | SEQ ID No 464 | AQAARRGYLTKI |
| SEQ ID No 431 | RCAKDPWRL            | SEQ ID No 465 | AQAARRGYLTK  |
| SEQ ID No 432 | RCAKDPWR             | SEQ ID No 466 | AQAARRGYLT   |
| SEQ ID No 433 | RCAKDPW              | SEQ ID No 467 | AQAARRGYL    |
| SEQ ID No 468 | AQAARRGY             | SEQ ID No 519 | CSKEAWRL     |
| SEQ ID No 469 | AQAARRG              | SEQ ID No 520 | CSKEAWR      |
| SEQ ID No 470 | AQAARR               | SEQ ID No 521 | CSKEAW       |

(continuación)

|               |              |               |               |
|---------------|--------------|---------------|---------------|
| SEQ ID No 471 | AQAAR        | SEQ ID No 522 | CSKEA         |
| SEQ ID No 472 | QAARRGYLTKIL | SEQ ID No 523 | SKEAWRLPGT    |
| SEQ ID No 473 | QAARRGYLTKI  | SEQ ID No 524 | SKEAWRLPG     |
| SEQ ID No 474 | QAARRGYLTK   | SEQ ID No 525 | SKEAWRLP      |
| SEQ ID No 475 | QAARRGYLT    | SEQ ID No 526 | SKEAWRL       |
| SEQ ID No 476 | QAARRGYL     | SEQ ID No 527 | SKEAWR        |
| SEQ ID No 477 | QAARRGY      | SEQ ID No 528 | SKEAW         |
| SEQ ID No 478 | QAARRG       | SEQ ID No 529 | KEAWRLPGT     |
| SEQ ID No 479 | QAARR        | SEQ ID No 530 | KEAWRLPG      |
| SEQ ID No 480 | AARRGYLTKIL  | SEQ ID No 531 | KEAWRLP       |
| SEQ ID No 481 | AARRGYLTKI   | SEQ ID No 532 | KEAWRL        |
| SEQ ID No 482 | AARRGYLTK    | SEQ ID No 533 | KEAWR         |
| SEQ ID No 483 | AARRGYLT     | SEQ ID No 534 | EAWRLPGT      |
| SEQ ID No 484 | AARRGYL      | SEQ ID No 535 | EAWRLPG       |
| SEQ ID No 485 | AARRGY       | SEQ ID No 536 | EAWRLP        |
| SEQ ID No 486 | AARRG        | SEQ ID No 537 | EAWRL         |
| SEQ ID No 487 | ARRGYLTKIL   | SEQ ID No 538 | AWRLPGT       |
| SEQ ID No 488 | ARRGYLTKI    | SEQ ID No 539 | AWRLPG        |
| SEQ ID No 489 | ARRGYLTK     | SEQ ID No 540 | AWRLP         |
| SEQ ID No 490 | ARRGYLT      | SEQ ID No 541 | WRLPGT        |
| SEQ ID No 491 | ARRGYL       | SEQ ID No 542 | WRLPG         |
| SEQ ID No 492 | ARRGY        | SEQ ID No 543 | RLPGT         |
| SEQ ID No 493 | RRGYLTKIL    | SEQ ID No 544 | TRAARRGYVIKVL |
| SEQ ID No 494 | RRGYLTKI     | SEQ ID No 545 | TRAARRGYVIKV  |
| SEQ ID No 495 | RRGYLTK      | SEQ ID No 546 | TRAARRGYVIK   |
| SEQ ID No 496 | RRGYLT       | SEQ ID No 547 | TRAARRGYVI    |

(continuación)

|               |              |               |              |
|---------------|--------------|---------------|--------------|
| SEQ ID No 497 | RRGYL        | SEQ ID No 548 | TRAARRGYV    |
| SEQ ID No 498 | RGYLTKIL     | SEQ ID No 549 | TRAARRGY     |
| SEQ ID No 499 | RGYLTKI      | SEQ ID No 550 | TRAARRG      |
| SEQ ID No 500 | RGYLTK       | SEQ ID No 551 | TRAARR       |
| SEQ ID No 501 | RGYLT        | SEQ ID No 552 | TRAAR        |
| SEQ ID No 502 | GYLTKIL      | SEQ ID No 553 | RAARRGYVIKVL |
| SEQ ID No 503 | GYLTKI       | SEQ ID No 554 | RAARRGYVIKV  |
| SEQ ID No 504 | GYLTK        | SEQ ID No 555 | RAARRGYVIK   |
| SEQ ID No 505 | YLTkIL       | SEQ ID No 556 | RAARRGYVI    |
| SEQ ID No 506 | YLTkI        | SEQ ID No 557 | RAARRGYV     |
| SEQ ID No 507 | LTKIL        | SEQ ID No 558 | RAARRGY      |
| SEQ ID No 508 | RCSKEAWRLPGT | SEQ ID No 559 | RAARRG       |
| SEQ ID No 509 | RCSKEAWRLPG  | SEQ ID No 560 | RAARR        |
| SEQ ID No 510 | RCSKEAWRLP   | SEQ ID No 561 | AARRGYVIKVL  |
| SEQ ID No 511 | RCSKEAWRL    | SEQ ID No 562 | AARRGYVIKV   |
| SEQ ID No 512 | RCSKEAWR     | SEQ ID No 563 | AARRGYVIK    |
| SEQ ID No 513 | RCSKEAW      | SEQ ID No 564 | AARRGYVI     |
| SEQ ID No 514 | RCSKEA       | SEQ ID No 565 | AARRGYV      |
| SEQ ID No 515 | RCSKE        | SEQ ID No 566 | AARRGY       |
| SEQ ID No 516 | CSKEAWRLPGT  | SEQ ID No 567 | AARRG        |
| SEQ ID No 517 | CSKEAWRLPG   | SEQ ID No 568 | ARRGYVIKVL   |
| SEQ ID No 518 | CSKEAWRLP    | SEQ ID No 569 | ARRGYVIKV    |
| SEQ ID No 570 | ARRGYVIK     |               |              |
| SEQ ID No 571 | ARRGYVI      |               |              |
| SEQ ID No 572 | ARRGYV       |               |              |
| SEQ ID No 573 | ARRGY        |               |              |

(continuación)

|               |                          |
|---------------|--------------------------|
| SEQ ID No 574 | RRGYVIKVL                |
| SEQ ID No 575 | RRGYVIKV                 |
| SEQ ID No 576 | RRGYVIK                  |
| SEQ ID No 577 | RRGYVI                   |
| SEQ ID No 578 | RRGYV                    |
| SEQ ID No 579 | RGYVIKVL                 |
| SEQ ID No 580 | RGYVIKV                  |
| SEQ ID No 581 | RGYVIK                   |
| SEQ ID No 582 | RGYVI                    |
| SEQ ID No 583 | GYVIKVL                  |
| SEQ ID No 584 | GYVIKV                   |
| SEQ ID No 585 | GYVIK                    |
| SEQ ID No 586 | YVIKVL                   |
| SEQ ID No 587 | YVIKV                    |
| SEQ ID No 588 | VIKVL                    |
| SEQ ID No 589 | TCGTCGTTTTTCGGTGCTTTT    |
| SEQ ID No 590 | TCGTCGTTTTTCGGTCGTTTT    |
| SEQ ID No 591 | TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT |
| SEQ ID No 592 | TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT |
| SEQ ID No 593 | TCGTCGTTTTGTCGTTTTTTTCGA |
| SEQ ID No 594 | TCGGTCGTTTCGGCGCGCGCCG   |
| SEQ ID No 595 | TCGTCGACGTTTCGGCGCGCGCCG |
| SEQ ID No 596 | TCGGACGTTTCGGCGCGCGCCG   |
| SEQ ID No 597 | TCGGACGTTTCGGCGCGCGCCG   |
| SEQ ID No 598 | TCGGTCGTTTCGGCGCGCGCCG   |
| SEQ ID No 599 | TCGACGTTTCGGCGCGCGCGCCG  |

(continuación)

|               |                           |
|---------------|---------------------------|
| SEQ ID No 600 | TCGACGTTCGGCGCGCCG        |
| SEQ ID No 601 | TCGCGTCGTTCCGGCGCCG       |
| SEQ ID No 602 | TCGCGACGTTCCGGCGCGCGCCG   |
| SEQ ID No 603 | TCGTCGTTTTCCGGCGCGCGCCG   |
| SEQ ID No 604 | TCGTCGTTTTCCGGCGCGCGCCG   |
| SEQ ID No 605 | TCGTCGTTTTACGGCGCGCGTGCCG |
| SEQ ID No 606 | TCGTCGTTTTCCGGCGCGCGCCGT  |
| SEQ ID No 607 | TCGTCGACGATCGGCGCGCGCCG   |

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> PFIZER VACCINE LLC  
 5 <120> Vacuna de PCSK9  
 <130> PC33896A  
 10 <160> 607  
 <170> PatentIn versión 3.5  
 <210> 1  
 <211> 13  
 15 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 20 <400> 1

**Ile Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe Val Ser**  
**1 5 10**

25 <210> 2  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 30 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 2

**Ile Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe Val**  
**1 5 10**

35 <210> 3  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 40 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 45 <400> 3

**Ile Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe**  
**1 5 10**

50 <210> 4  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 55 <223> Péptido sintético  
 <400> 4

Ile Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys

1 5 10

5 <210> 5  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 5

Ile Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr

1 5

15 <210> 6  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 6

Ile Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser

1 5

25 <210> 7  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético

35 <400> 7

Ile Gly Ala Ser Ser Asp Cys

1 5

40 <210> 8  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 8

Ile Gly Ala Ser Ser Asp

1 5

50 <210> 9  
<211> 5  
<212> PRT

ES 2 670 576 T3

<213> Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

5

<400> 9

**Ile Gly Ala Ser Ser**  
**1 5**

10

<210> 10

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

15

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 10

**Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe Val Ser**  
**1 5 10**

20

<210> 11

<211> 11

<212> PRT

25

<213> Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

30

<400> 11

**Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe Val**  
**1 5 10**

35

<210> 12

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

40

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 12

**Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe**  
**1 5 10**

45

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

50

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 13

55

**Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys**  
**1 5**



ES 2 670 576 T3

5 <210> 14  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

10 <400> 14

**Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr**  
**1 5**

15 <210> 15  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

20 <400> 15

**Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser**  
**1 5**

25 <210> 16  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 16

35 **Gly Ala Ser Ser Asp Cys**  
**1 5**

40 <210> 17  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

45 <400> 17

**Gly Ala Ser Ser Asp**  
**1 5**

50 <210> 18  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

55 <400> 18

ES 2 670 576 T3

**Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe Val Ser**  
**1 5 10**

5 <210> 19  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido sintético  
  
10 <400> 19

**Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe Val**  
**1 5 10**

15 <210> 20  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
20 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 20

**Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe**  
**1 5**

25  
  
30 <210> 21  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido sintético  
  
35 <400> 21

**Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys**  
**1 5**

40 <210> 22  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
45 <223> Péptido sintético  
  
<400> 22

**Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr**  
**1 5**

50 <210> 23  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
55 <220>

ES 2 670 576 T3

<223> Péptido sintético

<400> 23

**Ala Ser Ser Asp Cys Ser**  
**1 5**

5

<210> 24  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

10

<220>  
<223> Péptido sintético

15

<400> 24

**Ala Ser Ser Asp Cys**  
**1 5**

20

<210> 25  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

25

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 25

**Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe Val Ser**  
**1 5 10**

30

<210> 26  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

35

<220>  
<223> Péptido sintético

40

<400> 26

**Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe Val**  
**1 5**

45

<210> 27  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

50

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 27

**Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe**  
**1 5**

55

<210> 28  
<211> 7

ES 2 670 576 T3

<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
5 <223> Péptido sintético  
  
<400> 28

**Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys**  
**1 5**

10 <210> 29  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
15 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
20 <400> 29

**Ser Ser Asp Cys Ser Thr**  
**1 5**

25 <210> 30  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
30 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 30

**Ser Ser Asp Cys Ser**  
**1 5**

35 <210> 31  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
40 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 31

**Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe Val Ser**  
**1 5**

45 <210> 32  
<211> 8  
<212> PRT  
50 <213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido sintético  
  
55 <400> 32

**Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe Val**  
**1 5**

ES 2 670 576 T3

5 <210> 33  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido sintético  
  
10 <400> 33  
  
**Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe**  
**1 5**

15 <210> 34  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
20 <223> Péptido sintético  
  
<400> 34  
  
**Ser Asp Cys Ser Thr Cys**  
**1 5**

25 <210> 35  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
30 <223> Péptido sintético  
  
<400> 35  
  
35 <210> 36  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
40 <223> Péptido sintético  
  
<400> 36  
  
**Asp Cys Ser Thr Cys Phe Val Ser**  
**1 5**

50 <210> 37  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
55 <223> Péptido sintético  
  
<400> 37

# ES 2 670 576 T3

Asp Cys Ser Thr Cys Phe Val 1 5

5 <210> 38  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
10 <223> Péptido sintético  
  
<400> 38

**Asp Cys Ser Thr Cys Phe**  
**1 5**

15 <210> 39  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
20 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 39

**Asp Cys Ser Thr Cys**  
**1 5**

25  
  
30 <210> 40  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido sintético  
  
35 <400> 40

**Cys Ser Thr Cys Phe Val Ser**  
**1 5**

40 <210> 41  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
45 <223> Péptido sintético  
  
<400> 41

**Cys Ser Thr Cys Phe Val**  
**1 5**

50 <210> 42  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
55 <220>  
<223> Péptido sintético

ES 2 670 576 T3

|    |                         |  |
|----|-------------------------|--|
|    | <400> 42                |  |
|    |                         | <b>Cys Ser Thr Cys Phe</b>   |
|    |                         | <b>1 5</b>   |
| 5  |                         |  |
|    | <210> 43                |  |
|    | <211> 6                 |  |
|    | <212> PRT               |  |
|    | <213> Artificial        |  |
| 10 |                         |  |
|    | <220>                   |  |
|    | <223> Péptido sintético |  |
|    | <400> 43                |  |
| 15 |                         |  |
|    |                         | <b>Ser Thr Cys Phe Val Ser</b>                                     |
|    |                         | <b>1 5</b>   |
|    | <210> 44                |  |
|    | <211> 5                 |  |
|    | <212> PRT               |  |
|    | <213> Artificial        |  |
| 20 |                         |  |
|    | <220>                   |  |
|    | <223> Péptido sintético |  |
| 25 |                         |  |
|    | <400> 44                |  |
|    |                         | <b>Ser Thr Cys Phe Val</b>   |
|    |                         | <b>1 5</b>   |
|    | <210> 45                |  |
|    | <211> 5                 |  |
|    | <212> PRT               |  |
|    | <213> Artificial        |  |
| 30 |                         |  |
|    | <220>                   |  |
|    | <223> Péptido sintético |  |
| 35 |                         |  |
|    | <400> 45                |  |
|    |                         | <b>Thr Cys Phe Val Ser</b>   |
|    |                         | <b>1 5</b>   |
| 40 |                         |  |
|    | <210> 46                |  |
|    | <211> 15                |  |
|    | <212> PRT               |  |
|    | <213> Artificial        |  |
| 45 |                         |  |
|    | <220>                   |  |
|    | <223> Péptido sintético |  |
| 50 |                         |  |
|    | <400> 46                |  |
|    |                         | <b>Glu Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys Asp Ser</b> |
|    |                         | <b>1 5 10 15</b>   |
|    | <210> 47                |  |
|    | <211> 14                |  |
|    | <212> PRT               |  |
|    | <213> Artificial        |  |
| 55 |                         |  |

ES 2 670 576 T3

<220>  
<223> Péptido sintético

5 <400> 47

**Glu Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys Asp**  
**1 5 10**

10 <210> 48  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 48

**Glu Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys**  
**1 5 10**

20 <210> 49  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 49

30 **Glu Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys**  
**1 5 10**

35 <210> 50  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial

40 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 50

**Glu Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser**  
**1 5 10**

45 <210> 51  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

50 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 51

55 **Glu Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala**  
**1 5 10**



ES 2 670 576 T3

5  
<210> 52  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

10  
<400> 52

**Glu Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln**  
**1 5**

15  
<210> 53  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> Artificial

20  
<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 53

**Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys Asp Ser**  
**1 5 10**

25  
<210> 54  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Artificial

30  
<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 54

**Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys Asp**  
**1 5 10**

35  
<210> 55  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Artificial

40  
<220>  
<223> Péptido sintético

45  
<400> 55

**Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys**  
**1 5 10**

50  
<210> 56  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial

55  
<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 56

ES 2 670 576 T3

Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys  
1 5 10

5 <210> 57  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 57

Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser  
1 5 10

15 <210> 58  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 58

25 Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala  
1 5

30 <210> 59  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

35 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 59

Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln  
1 5

40 <210> 60  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 60

Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys Asp Ser  
1 5 10

50 <210> 61  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Artificial

55 <220>

<223> Péptido sintético

<400> 61

**Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys Asp**  
**1 5 10**

5

<210> 62

<211> 11

<212> PRT

10 <213> Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

15

<400> 62

**Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys**  
**1 5 10**

20

<210> 63

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25 <223> Péptido sintético

<400> 63

**Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys**  
**1 5 10**

30

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

35 <213> Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

40

<400> 64

**Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser**  
**1 5**

45

<210> 65

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

50 <223> Péptido sintético

<400> 65

**Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala**  
**1 5**

55

<210> 66

<211> 7

ES 2 670 576 T3

<212> PRT  
<213> Artificial

5 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 66

**Gly Thr Arg Phe His Arg Gln**  
**1 5**

10 <210> 67  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 67

20 **Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys Asp Ser**  
**1 5 10**

25 <210> 68  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 68

**Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys Asp**  
**1 5 10**

35 <210> 69  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

40 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 69

**Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys**

45 **1 5 10**

50 <210> 70  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 70

ES 2 670 576 T3

**Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys**  
**1 5**

5 <210> 71  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 71

**Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser**  
**1 5**

15 <210> 72  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 72

**Thr Arg Phe His Arg Gln Ala**  
**1 5**

25 <210> 73  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético

35 <400> 73

**Thr Arg Phe His Arg Gln**  
**1 5**

40 <210> 74  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 74

**Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys Asp Ser**  
**1 5 10**

50 <210> 75  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

55 <220>  
<223> Péptido sintético

ES 2 670 576 T3

<400> 75

**Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys Asp**  
**1 5 10**

5 <210> 76  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 76

**Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys**  
**1 5**

15 <210> 77  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético

25 <400> 77

**Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys**  
**1 5**

30 <210> 78  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

35 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 78

**Arg Phe His Arg Gln Ala Ser**  
**1 5**

40 <210> 79  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Péptido sintético

50 <400> 79

**Arg Phe His Arg Gln Ala**  
**1 5**

55 <210> 80  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

ES 2 670 576 T3

<220>  
<223> Péptido sintético

5 <400> 80

**Arg Phe His Arg Gln**  
**1 5**

10 <210> 81  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 81

**Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys Asp Ser**  
**1 5 10**

20 <210> 82  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 82

30 <210> 83  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

35 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 83

**Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys**  
**1 5**

45 <210> 84  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

50 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 84

**Phe His Arg Gln Ala Ser Lys**  
**1 5**

55

ES 2 670 576 T3

5 <210> 85  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 85

**Phe His Arg Gln Ala Ser**  
**1 5**

15 <210> 86  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 86

**Phe His Arg Gln Ala**  
**1 5**

25 <210> 87  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 87

**His Arg Gln Ala Ser Lys Cys Asp Ser**  
**1 5**

35 <210> 88  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

40 <220>  
<223> Péptido sintético

45 <400> 88

**His Arg Gln Ala Ser Lys Cys Asp**  
**1 5**

50 <210> 89  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

55 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 89



ES 2 670 576 T3

**His Arg Gln Ala Ser Lys Cys**  
**1 5**

5 <210> 90  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

10 <400> 90

**His Arg Gln Ala Ser Lys**  
**1 5**

15 <210> 91  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 91

**His Arg Gln Ala Ser**  
**1 5**

25 <210> 92  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético

35 <400> 92

**Arg Gln Ala Ser Lys Cys Asp Ser**  
**1 5**

40 <210> 93  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 93

**Arg Gln Ala Ser Lys Cys Asp**  
**1 5**

50 <210> 94  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

55 <220>  
<223> Péptido sintético

ES 2 670 576 T3

<400> 94

**Arg Gln Ala Ser Lys Cys**  
**1 5**

5

<210> 95  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

10

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 95

15

**Arg Gln Ala Ser Lys**  
**1 5**

<210> 96  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

20

<220>  
<223> Péptido sintético

25

<400> 96

**Gln Ala Ser Lys Cys Asp Ser**  
**1 5**

30

<210> 97  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

35

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 97

**Gln Ala Ser Lys Cys Asp**  
**1 5**

40

<210> 98  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

45

<220>  
<223> Péptido sintético

50

<400> 98

**Gln Ala Ser Lys Cys**  
**1 5**

55

<210> 99  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

ES 2 670 576 T3

<220>  
<223> Péptido sintético

5 <400> 99

**Ala Ser Lys Cys Asp Ser**  
**1 5**

10 <210> 100  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 100

**Ala Ser Lys Cys Asp**  
**1 5**

20 <210> 101  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 101

30 <210> 102  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> Artificial

35 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 102

**Ser Ile Gln Ser Asp His Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val Met**  
**1 5 10**

45 <210> 103  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Artificial

50 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 103

**Ser Ile Gln Ser Asp His Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val**  
**1 5 10**

55

ES 2 670 576 T3

5 <210> 104  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 10 <400> 104  
  
                   **Ser Ile Gln Ser Asp His Arg Glu Ile Glu Gly Arg**  
                   **1                  5                                  10**

15 <210> 105  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 20 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <400> 105  
  
                   **Ser Ile Gln Ser Asp His Arg Glu Ile Glu Gly**  
                   **1                  5                                  10**

25 <210> 106  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 30 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <400> 106  
  
 35 <210> 107  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 40 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 45 <400> 107  
  
                   **Ser Ile Gln Ser Asp His Arg Glu Ile**  
                   **1                  5**

50 <210> 108  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 55 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <400> 108

ES 2 670 576 T3

Ile Gln Ser Asp His Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val Met  
 1 5 10

5 <210> 109  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 109

Ile Gln Ser Asp His Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val  
 1 5 10

15 <210> 110  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 110

25 Ile Gln Ser Asp His Arg Glu Ile Glu Gly Arg  
 1 5 10

30 <210> 111  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

35 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 111

Ile Gln Ser Asp His Arg Glu Ile Glu Gly  
 1 5 10

40 <210> 112  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

45 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 112

50 Ile Gln Ser Asp His Arg Glu Ile Glu  
 1 5

55 <210> 113  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

ES 2 670 576 T3

<220>  
<223> Péptido sintético

5 <400> 113

**Ile Gln Ser Asp His Arg Glu Ile**  
**1 5**

10 <210> 114  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 114

**Gln Ser Asp His Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val Met**  
**1 5 10**

20 <210> 115  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 115

**Gln Ser Asp His Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val**  
**1 5 10**

30 <210> 116  
<211> 10  
<212> PRT  
35 <213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético  
40 <400> 116

**Gln Ser Asp His Arg Glu Ile Glu Gly Arg**  
**1 5 10**

45 <210> 117  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

50 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 117

**Gln Ser Asp His Arg Glu Ile Glu Gly**  
**1 5**

ES 2 670 576 T3

5 <210> 118  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético

10 <400> 118

**Gln Ser Asp His Arg Glu Ile Glu**  
**1 5**

15 <210> 119  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético

20 <400> 119

**Gln Ser Asp His Arg Glu Ile**  
**1 5**

25 <210> 120  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético

30 <400> 120

35 **Ser Asp His Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val Met**  
**1 5 10**

40 <210> 121  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético

45 <400> 121

**Ser Asp His Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val**  
**1 5 10**

50 <210> 122  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético

55 <400> 122

ES 2 670 576 T3

**Ser Asp His Arg Glu Ile Glu Gly Arg**  
**1 5**

5 <210> 123  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 123

**Ser Asp His Arg Glu Ile Glu Gly**  
**1 5**

15 <210> 124  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 124

25 **Ser Asp His Arg Glu Ile Glu**  
**1 5**

30 <210> 125  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

35 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 125

**Ser Asp His Arg Glu Ile**  
**1 5**

40 <210> 126  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 126

**Asp His Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val Met**  
**1 5 10**

50 <210> 127  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

55 <220>



ES 2 670 576 T3

<223> Péptido sintético  
<400> 127

**Asp His Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val**  
**1 5**

5

<210> 128  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

10

<220>  
<223> Péptido sintético

15

<400> 128

**Asp His Arg Glu Ile Glu Gly Arg**  
**1 5**

20

<210> 129  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

25

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 129

**Asp His Arg Glu Ile Glu Gly**  
**1 5**

30

<210> 130  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

35

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 130

40

**Asp His Arg Glu Ile Glu**  
**1 5**

45

<210> 131  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

50

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 131

**Asp His Arg Glu Ile**  
**1 5**

55

<210> 132  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

ES 2 670 576 T3

<220>  
<223> Péptido sintético

5 <400> 132

**His Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val Met**  
**1 5**

<210> 133  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 133

**His Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val**  
**1 5**

20 <210> 134  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> Péptido sintético

30 <400> 134

**His Arg Glu Ile Glu Gly Arg**  
**1 5**

<210> 135  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

35 <220>  
<223> Péptido sintético

40 <400> 135

**His Arg Glu Ile Glu Gly**  
**1 5**

45 <210> 136  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

50 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 136

ES 2 670 576 T3

**His Arg Glu Ile Glu**  
**1 5**

5 <210> 137  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 137

**Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val Met**  
**1 5**

15 <210> 138  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 138

**Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val**  
**1 5**

25 <210> 139  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético

35 <400> 139

**Arg Glu Ile Glu Gly Arg**  
**1 5**

40 <210> 140  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 140

**Arg Glu Ile Glu Gly**  
**1 5**

50 <210> 141  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

55 <220>  
<223> Péptido sintético

ES 2 670 576 T3

<400> 141

**Glu Ile Glu Gly Arg Val Met**  
**1 5**

5

<210> 142  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

10

<220>  
<223> Péptido sintético

15

<400> 142

**Glu Ile Glu Gly Arg Val**  
**1 5**

20

<210> 143  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

25

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 143

**Glu Ile Glu Gly Arg**  
**1 5**

30

<210> 144  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

35

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 144

**Ile Glu Gly Arg Val Met**  
**1 5**

40

<210> 145  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

45

<220>  
<223> Péptido sintético

50

<400> 145

**Ile Glu Gly Arg Val**  
**1 5**

55

<210> 146  
<211> 5  
<212> PRT

ES 2 670 576 T3

<213> Artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 5  
 <400> 146  
  

**Glu Gly Arg Val Met**  
**1 5**

  
 10  
 <210> 147  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 15  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <400> 147  
  

**Val Ser Gly Arg Asp Ala Gly Val Ala Lys Gly Ala Ser**  
**1 5 10**

  
 20  
 <210> 148  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 25  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 30  
 <400> 148  
  

**Val Ser Gly Arg Asp Ala Gly Val Ala Lys Gly Ala**  
**1 5 10**

  
 35  
 <210> 149  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 40  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <400> 149  
  

**Val Ser Gly Arg Asp Ala Gly Val Ala Lys Gly**  
**1 5 10**

  
 45  
 <210> 150  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 50  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <400> 150  
  
 55

ES 2 670 576 T3

Val Ser Gly Arg Asp Ala Gly Val Ala Lys  
1 5 10

5 <210> 151  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
10 <223> Péptido sintético

<400> 151

Val Ser Gly Arg Asp Ala Gly Val Ala  
1 5

15 <210> 152  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 152

Ser Gly Arg Asp Ala Gly Val Ala Lys Gly Ala Ser  
1 5 10

25

30 <210> 153  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

35 <400> 153

Ser Gly Arg Asp Ala Gly Val Ala Lys Gly Ala  
1 5 10

40 <210> 154  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
45 <223> Péptido sintético

<400> 154

Ser Gly Arg Asp Ala Gly Val Ala Lys Gly  
1 5 10

50 <210> 155  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

55

ES 2 670 576 T3

<220>  
<223> Péptido sintético

5 <400> 155

**Ser Gly Arg Asp Ala Gly Val Ala Lys**  
**1 5**

<210> 156  
<211> 8  
10 <212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
15 <223> Péptido sintético

<400> 156

**Ser Gly Arg Asp Ala Gly Val Ala**  
**1 5**

20 <210> 157  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 157

**Gly Arg Asp Ala Gly Val Ala Lys Gly Ala Ser**  
**1 5 10**

30 <210> 158  
<211> 10  
35 <212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
40 <223> Péptido sintético

<400> 158

**Gly Arg Asp Ala Gly Val Ala Lys Gly Ala**  
**1 5 10**

45 <210> 159  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

50 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 159

**Gly Arg Asp Ala Gly Val Ala Lys Gly**  
**1 5**

55 <210> 160

<211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

5

<220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 160

10

**Gly Arg Asp Ala Gly Val Ala Lys**  
**1 5**

<210> 161  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

15

<220>  
 <223> Péptido sintético

20

<400> 161

25

**Gly Arg Asp Ala Gly Val Ala**  
**1 5**

<210> 162  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30

<220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 162

35

**Arg Asp Ala Gly Val Ala Lys Gly Ala Ser**  
**1 5 10**

<210> 163  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

40

<220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 163

45

**Arg Asp Ala Gly Val Ala Lys Gly Ala**  
**1 5**

<210> 164  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

50

<220>  
 <223> Péptido sintético

55

<400> 164



ES 2 670 576 T3

**Arg Asp Ala Gly Val Ala Lys Gly**  
**1 5**

5 <210> 165  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 165

**Arg Asp Ala Gly Val Ala Lys**  
**1 5**

15 <210> 166  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 166

**Arg Asp Ala Gly Val Ala**  
**1 5**

25 <210> 167  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético

35 <400> 167

**Asp Ala Gly Val Ala Lys Gly Ala Ser**  
**1 5**

40 <210> 168  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 168

**Asp Ala Gly Val Ala Lys Gly Ala**  
**1 5**

50 <210> 169  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

55 <220>

ES 2 670 576 T3

<223> Péptido sintético

<400> 169

**Asp Ala Gly Val Ala Lys Gly**  
**1 5**

5

<210> 170

<211> 6

<212> PRT

10 <213> Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

15 <400> 170

**Asp Ala Gly Val Ala Lys**  
**1 5**

20

<210> 171

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25 <223> Péptido sintético

<400> 171

**Asp Ala Gly Val Ala**  
**1 5**

30

<210> 172

<211> 8

<212> PRT

35 <213> Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

40 <400> 172

**Ala Gly Val Ala Lys Gly Ala Ser**  
**1 5**

45

<210> 173

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

50 <223> Péptido sintético

<400> 173

**Ala Gly Val Ala Lys Gly Ala**  
**1 5**

55

<210> 174

<211> 6

<212> PRT

ES 2 670 576 T3

<213> Artificial  
<220>  
<223> Péptido sintético  
5  
<400> 174

**Ala Gly Val Ala Lys Gly**  
**1 5**

10 <210> 175  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 175

**Ala Gly Val Ala Lys**  
**1 5**

20  
  
25 <210> 176  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético  
30 <400> 176

**Gly Val Ala Lys Gly Ala Ser**  
**1 5**

35 <210> 177  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

40 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 177

**Gly Val Ala Lys Gly Ala**  
**1 5**

45 <210> 178  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

50 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 178

55  
  
**Gly Val Ala Lys Gly**  
**1 5**

ES 2 670 576 T3

5 <210> 179  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético  
10 <400> 179

**Val Ala Lys Gly Ala Ser**  
**1 5**

15 <210> 180  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético  
20 <400> 180

**Val Ala Lys Gly Ala**  
**1 5**

25 <210> 181  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético  
35 <400> 181

**Ala Lys Gly Ala Ser**  
**1 5**

40 <210> 182  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético  
45 <400> 182

**Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Thr Pro Pro Arg**  
**1 5 10**

50 <210> 183  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético  
55 <400> 183

ES 2 670 576 T3

**Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Thr Pro Pro**  
**1 5 10**

5 <210> 184  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 10 <400> 184

**Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Thr Pro**  
**1 5 10**

15 <210> 185  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 20 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 185

**Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Thr**  
**1 5 10**

25 <210> 186  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 30 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 35 <400> 186

**Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile**  
**1 5**

40 <210> 187  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 45 <223> Péptido sintético  
 <400> 187

**Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg**  
**1 5**

50 <210> 188  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 55 <220>  
 <223> Péptido sintético

ES 2 670 576 T3

<400> 188

**Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu**  
**1 5**

5

<210> 189  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

10

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 189

15

**Ser Ile Pro Trp Asn Leu**  
**1 5**

<210> 190  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

20

<220>  
<223> Péptido sintético

25

<400> 190

**Ser Ile Pro Trp Asn**  
**1 5**

<210> 191  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Artificial

30

<220>  
<223> Péptido sintético

35

<400> 191

**Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Thr Pro Pro Arg**  
**1 5 10**

40

<210> 192  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial

45

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 192

50

**Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Thr Pro Pro**  
**1 5 10**

<210> 193  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

55

ES 2 670 576 T3

<220>  
<223> Péptido sintético

5 <400> 193

**Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Thr Pro**  
**1 5 10**

<210> 194  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

10

<220>  
<223> Péptido sintético

15 <400> 194

**Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Thr**  
**1 5**

20

<210> 195  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

25

<220>  
<223> Péptido sintético

30 <400> 195

**Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile**  
**1 5**

<210> 196  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

35

<220>  
<223> Péptido sintético

40 <400> 196

**Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg**  
**1 5**

45 <210> 197  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

50 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 197

**Ile Pro Trp Asn Leu Glu**  
**1 5**

55 <210> 198

ES 2 670 576 T3

<211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

5 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 198

**Ile Pro Trp Asn Leu**  
**1 5**

10 <210> 199  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 15 <213> Artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético  
 20 <400> 199

**Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Thr Pro Pro Arg**  
**1 5 10**

25 <210> 200  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 200

**Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Thr Pro Pro**  
**1 5 10**

35 <210> 201  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 40 <213> Artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético  
 45 <400> 201

**Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Thr Pro**  
**1 5**

50 <210> 202  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 55 <223> Péptido sintético  
 <400> 202



ES 2 670 576 T3

**Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Thr**  
**1 5**

5 <210> 203  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 203

**Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile**  
**1 5**

15 <210> 204  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético

25 <400> 204

**Pro Trp Asn Leu Glu Arg**  
**1 5**

30 <210> 205  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

35 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 205

**Pro Trp Asn Leu Glu**  
**1 5**

40 <210> 206  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 206

**Trp Asn Leu Glu Arg Ile Thr Pro Pro Arg**  
**1 5 10**

50 <210> 207  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

55

ES 2 670 576 T3

<220>  
<223> Péptido sintético

5 <400> 207

**Trp Asn Leu Glu Arg Ile Thr Pro Pro**  
**1 5**

<210> 208  
<211> 8  
10 <212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

15 <400> 208

**Trp Asn Leu Glu Arg Ile Thr Pro**  
**1 5**

20 <210> 209  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 209

**Trp Asn Leu Glu Arg Ile Thr**  
**1 5**

30 <210> 210  
<211> 6  
35 <212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

40 <400> 210

**Trp Asn Leu Glu Arg Ile**  
**1 5**

45 <210> 211  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

50 <400> 211

**Trp Asn Leu Glu Arg**  
**1 5**

55 <210> 212

ES 2 670 576 T3

<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

5 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 212

10 **Asn Leu Glu Arg Ile Thr Pro Pro Arg**  
**1 5**

<210> 213  
<211> 8  
<212> PRT  
15 <213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

20 <400> 213

**Asn Leu Glu Arg Ile Thr Pro Pro**  
**1 5**

<210> 214  
25 <211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
30 <223> Péptido sintético

<400> 214

**Asn Leu Glu Arg Ile Thr Pro**  
**1 5**

35 <210> 215  
<211> 6  
<212> PRT  
40 <213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 215

45 **Asn Leu Glu Arg Ile Thr**  
**1 5**

<210> 216  
50 <211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
55 <223> Péptido sintético

<400> 216

**Asn Leu Glu Arg Ile**  
**1 5**

ES 2 670 576 T3

5 <210> 217  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido sintético

10 <400> 217

**Leu Glu Arg Ile Thr Pro Pro Arg**  
**1 5**

15 <210> 218  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido sintético

20 <400> 218

**Leu Glu Arg Ile Thr Pro Pro**  
**1 5**

25 <210> 219  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido sintético

30 <400> 219

35 **Leu Glu Arg Ile Thr Pro**  
**1 5**

40 <210> 220  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido sintético

45 <400> 220

**Leu Glu Arg Ile Thr**  
**1 5**

50 <210> 221  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido sintético

55 <400> 221

ES 2 670 576 T3

**Glu Arg Ile Thr Pro Pro Arg**  
**1 5**

5 <210> 222  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 222

**Glu Arg Ile Thr Pro Pro**  
**1 5**

15 <210> 223  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 223

**Glu Arg Ile Thr Pro**  
**1 5**

25 <210> 224  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético

35 <400> 224

**Arg Ile Thr Pro Pro Arg**  
**1 5**

40 <210> 225  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 225

**Arg Ile Thr Pro Pro**  
**1 5**

50 <210> 226  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

55 <220>

ES 2 670 576 T3

<223> Péptido sintético

<400> 226

Ile Thr Pro Pro Arg  
1 5

5

<210> 227

<211> 12

<212> PRT

10 <213> Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

15 <400> 227

Asn Ala Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly Thr Leu  
1 5 10

20

<210> 228

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25 <223> Péptido sintético

<400> 228

Asn Ala Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly Thr  
1 5 10

30

<210> 229

<211> 10

<212> PRT

35 <213> Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 229

40

Asn Ala Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly  
1 5 10

<210> 230

<211> 9

45 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

50 <223> Péptido sintético

<400> 230

Asn Ala Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu  
1 5

55

<210> 231

<211> 8

ES 2 670 576 T3

<212> PRT  
<213> Artificial

5 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 231

**Asn Ala Gln Asp Gln Pro Val Thr**  
**1 5**

10 <210> 232  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 232

20 **Asn Ala Gln Asp Gln Pro Val**  
**1 5**

<210> 233  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> Péptido sintético

30 <400> 233

**Asn Ala Gln Asp Gln Pro**  
**1 5**

35 <210> 234  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

40 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 234

**Asn Ala Gln Asp Gln**  
**1 5**

45 <210> 235  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial

50 <220>  
<223> Péptido sintético

55 <400> 235

ES 2 670 576 T3

**Ala Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly Thr Leu**  
**1 5 10**

5 <210> 236  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 236

**Ala Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly Thr**  
**1 5 10**

15 <210> 237  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 237

**Ala Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly**  
**1 5**

25 <210> 238  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético

35 <400> 238

**Ala Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu**  
**1 5**

40 <210> 239  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

45 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 239

**Ala Gln Asp Gln Pro Val Thr**  
**1 5**

50 <210> 240  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

55 <220>  
 <223> Péptido sintético



ES 2 670 576 T3

<400> 240

**Ala Gln Asp Gln Pro Val**  
**1 5**

5

<210> 241  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

10

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 241

15

**Ala Gln Asp Gln Pro**  
**1 5**

<210> 242  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

20

<220>  
<223> Péptido sintético

25

<400> 242

**Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly Thr Leu**  
**1 5 10**

30

<210> 243  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

35

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 243

**Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly Thr**  
**1 5**

40

<210> 244  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

45

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 244

50

**Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly**  
**1 5**

55

<210> 245  
<211> 7  
<212> PRT

ES 2 670 576 T3

<213> Artificial  
<220>  
<223> Péptido sintético  
5  
<400> 245

**Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu**  
**1 5**

10 <210> 246  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 246

**Gln Asp Gln Pro Val Thr**  
**1 5**

20  
25 <210> 247  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético  
30 <400> 247

**Gln Asp Gln Pro Val**  
**1 5**

35 <210> 248  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

40 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 248

**Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly Thr Leu**  
**1 5**

45 <210> 249  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

50 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 249

55  
**Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly Thr**  
**1 5**

ES 2 670 576 T3

5 <210> 250  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

10 <400> 250

**Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly**  
**1 5**

15 <210> 251  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

20 <400> 251

**Asp Gln Pro Val Thr Leu**  
**1 5**

25 <210> 252  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 252

**Asp Gln Pro Val Thr**  
**1 5**

35 <210> 253  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

40 <400> 253

**Gln Pro Val Thr Leu Gly Thr Leu**  
**1 5**

45 <210> 254  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

50 <400> 254

55 <210> 254  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 254

ES 2 670 576 T3

**Gln Pro Val Thr Leu Gly Thr**  
**1 5**

5 <210> 255  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 255

**Gln Pro Val Thr Leu Gly**  
**1 5**

15 <210> 256  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 256

**Gln Pro Val Thr Leu**  
**1 5**

25 <210> 257  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético

35 <400> 257

**Pro Val Thr Leu Gly Thr Leu**  
**1 5**

40 <210> 258  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 258

**Pro Val Thr Leu Gly Thr**  
**1 5**

50 <210> 259  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

55 <220>  
<223> Péptido sintético

ES 2 670 576 T3

<400> 259

**Pro Val Thr Leu Gly**  
**1 5**

5

<210> 260  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

10

<220>  
<223> Péptido sintético

15

<400> 260

**Val Thr Leu Gly Thr Leu**  
**1 5**

20

<210> 261  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

25

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 261

**Val Thr Leu Gly Thr**  
**1 5**

30

<210> 262  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

35

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 262

**Thr Leu Gly Thr Leu**  
**1 5**

40

<210> 263  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Artificial

45

<220>  
<223> Péptido sintético

50

<400> 263

**Ile Asn Glu Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Arg Val Leu**  
**1 5 10**

55

<210> 264  
<211> 12  
<212> PRT

ES 2 670 576 T3

<213> Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

5

<400> 264

**Ile Asn Glu Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Arg Val**

**1**

**5**

**10**

10

<210> 265

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

15

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 265

**Ile Asn Glu Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Arg**

**1**

**5**

**10**

20

<210> 266

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

25

<220>

<223> Péptido sintético

30

<400> 266

**Ile Asn Glu Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln**

**1**

**5**

**10**

35

<210> 267

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

40

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 267

**Ile Asn Glu Ala Trp Phe Pro Glu Asp**

**1**

**5**

45

<210> 268

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

50

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 268

55

ES 2 670 576 T3

Ile Asn Glu Ala Trp Phe Pro Glu  
1 5

5 <210> 269  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido sintético  
  
10 <400> 269

Ile Asn Glu Ala Trp Phe Pro  
1 5

15 <210> 270  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
20 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 270

Ile Asn Glu Ala Trp Phe  
1 5

25  
  
30 <210> 271  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido sintético  
  
35 <400> 271

Ile Asn Glu Ala Trp  
1 5

40 <210> 272  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido sintético  
  
45 <400> 272

Asn Glu Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Arg Val Leu  
1 5 10

50 <210> 273  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
55 <220>

ES 2 670 576 T3

<223> Péptido sintético

<400> 273

**Asn Glu Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Arg Val**  
**1 5 10**

5

<210> 274  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10

<220>  
 <223> Péptido sintético

15

<400> 274

**Asn Glu Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Arg**  
**1 5 10**

20

<210> 275  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

25

<220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 275

**Asn Glu Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln**  
**1 5**

30

<210> 276  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

35

<220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 276

40

**Asn Glu Ala Trp Phe Pro Glu Asp**  
**1 5**

45

<210> 277  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

50

<220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 277

**Asn Glu Ala Trp Phe Pro Glu**  
**1 5**

55

<210> 278  
 <211> 6  
 <212> PRT



ES 2 670 576 T3

<213> Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

5

<400> 278

**Asn Glu Ala Trp Phe Pro**  
**1 5**

10

<210> 279

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

15

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 279

**Asn Glu Ala Trp Phe**  
**1 5**

20

<210> 280

<211> 11

<212> PRT

25

<213> Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

30

<400> 280

**Glu Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Arg Val Leu**  
**1 5 10**

35

<210> 281

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

40

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 281

**Glu Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Arg Val**  
**1 5 10**

45

<210> 282

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

50

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 282

55

**Glu Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Arg**  
**1 5**

5 <210> 283  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 10 <400> 283

**Glu Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln**  
**1 5**

15 <210> 284  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 20 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 284

**Glu Ala Trp Phe Pro Glu Asp**  
**1 5**

25 <210> 285  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 30 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 35 <400> 285

**Glu Ala Trp Phe Pro Glu**  
**1 5**

40 <210> 286  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 45 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 286

**Glu Ala Trp Phe Pro**  
**1 5**

50 <210> 287  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 55 <220>  
 <223> Péptido sintético

ES 2 670 576 T3

<400> 287

**Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Arg Val Leu**  
**1 5 10**

5 <210> 288  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 288

**Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Arg Val**  
**1 5**

15 <210> 289  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético

25 <400> 289

**Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Arg**  
**1 5**

30 <210> 290  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

35 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 290

**Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln**  
**1 5**

40 <210> 291  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 291

50 **Ala Trp Phe Pro Glu Asp**  
**1 5**

55 <210> 292  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

ES 2 670 576 T3

<220>  
<223> Péptido sintético

5 <400> 292

**Ala Trp Phe Pro Glu**  
**1 5**

10 <210> 293  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 293

**Trp Phe Pro Glu Asp Gln Arg Val Leu**  
**1 5**

20 <210> 294  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 294

30 **Trp Phe Pro Glu Asp Gln Arg Val**  
**1 5**

35 <210> 295  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

40 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 295

**Trp Phe Pro Glu Asp Gln Arg**  
**1 5**

45 <210> 296  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

50 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 296

55 **Trp Phe Pro Glu Asp Gln**  
**1 5**

ES 2 670 576 T3

5  
<210> 297  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido sintético

10  
<400> 297

**Trp Phe Pro Glu Asp**  
**1 5**

15  
<210> 298  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido sintético

20  
<400> 298

**Phe Pro Glu Asp Gln Arg Val Leu**  
**1 5**

25  
<210> 299  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido sintético

30  
<400> 299

**Phe Pro Glu Asp Gln Arg Val**  
**1 5**

35  
  
40  
<210> 300  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido sintético

45  
<400> 300

**Phe Pro Glu Asp Gln Arg**  
**1 5**

50  
<210> 301  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido sintético

55  
<400> 301

ES 2 670 576 T3

**Phe Pro Glu Asp Gln**  
**1 5**

5 <210> 302  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 302

**Pro Glu Asp Gln Arg Val Leu**  
**1 5**

15 <210> 303  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 303

**Pro Glu Asp Gln Arg Val**  
**1 5**

25 <210> 304  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 304

**Pro Glu Asp Gln Arg**  
**1 5**

35 <210> 305  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

40 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 305

**Glu Asp Gln Arg Val Leu**  
**1 5**

45 <210> 306  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

50 <220>  
<223> Péptido sintético

ES 2 670 576 T3

<400> 306

**Glu Asp Gln Arg Val**  
**1 5**

5

<210> 307  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10

<220>  
 <223> Péptido sintético

15

<400> 307

**Asp Gln Arg Val Leu**  
**1 5**

20

<210> 308  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

25

<220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 308

**Val Asp Tyr Ile Glu Glu Asp Ser Ser Val Phe Ala Gln**  
**1 5 10**

30

<210> 309  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

35

<220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 309

**Arg Cys Ala Lys Asp Pro Trp Arg Leu Pro Gly Thr**  
**1 5 10**

40

<210> 310  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

45

<220>  
 <223> Péptido sintético

50

<400> 310

**Ala Gln Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys Ile Leu**  
**1 5 10**

55

<210> 311  
 <211> 16  
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

5

<400> 311

**Gly Asp Tyr Glu Glu Leu Val Leu Ala Leu Arg Ser Glu Glu Asp Gly**  
**1 5 10 15**

10

<210> 312

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

15

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 312

**Phe Leu Val Lys Met Ser Gly Asp Leu Leu Glu Leu Ala Leu Lys Leu**  
**1 5 10 15**

20

Pro

<210> 313

<211> 13

<212> PRT

25

<213> Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

30

<400> 313

**Lys Gly Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe Val**  
**1 5 10**

35

<210> 314

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

40

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 314

**Cys Gly Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys**  
**1 5 10**

45

<210> 315

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

50

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 315

55



ES 2 670 576 T3

**Cys Gly Ile Gln Ser Asp His Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val Cys**  
**1 5 10 15**

5 <210> 316  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 10 <400> 316

**Cys Ser Gly Arg Asp Ala Gly Val Ala Lys Gly Ala Cys**  
**1 5 10**

15 <210> 317  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 20 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 317

**Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Thr Pro Cys**  
**1 5 10**

25 <210> 318  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 30 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 35 <400> 318

**Ala Ser Lys Cys Gly Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln**  
**1 5 10**

40 <210> 319  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 45 <400> 319

**Ala Gly Cys Gly Thr Arg Phe His Arg Gln**  
**1 5 10**

50 <210> 320  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 55 <220>

ES 2 670 576 T3

<223> Péptido sintético  
 <400> 320  
 Gly Arg Val Cys Ile Gln Ser Asp His Arg Glu Ile Glu  
 1    5    10  
 5  
 <210> 321  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 10  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 15  
 <400> 321  
 Ala Gly Val Ala Lys Gly Ala Gly Cys Ser Gly Arg Asp  
 1    5    10  
 20  
 <210> 322  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 25  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 322  
 Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Ile Pro Cys  
 1    5    10  
 30  
 <210> 323  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 35  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 323  
 Cys Gly Gly Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Ile Pro  
 1    5    10  
 40  
 <210> 324  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 45  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 50  
 <400> 324  
 Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Ile Pro Gly Gly Cys  
 1    5    10  
 55  
 <210> 325  
 <211> 15  
 <212> PRT

ES 2 670 576 T3

<213> Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

5

<400> 325

**Cys Gly Gly Asn Ala Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly Thr Leu**  
**1 5 10 15**

10

<210> 326  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

15

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 326

**Asn Ala Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly Thr Leu Gly Gly Cys**  
**1 5 10 15**

20

<210> 327  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

25

<220>

<223> Péptido sintético

30

<400> 327

**Cys Gly Gly Ile Asn Met Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Gln Val Leu**  
**1 5 10 15**

35

<210> 328  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

40

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 328

**Asn Met Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Gln Val Leu Gly Gly Cys**  
**1 5 10 15**

45

<210> 329  
 <211> 152  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

50

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 329

55

ES 2 670 576 T3

Met Gly Thr Val Ser Ser Arg Arg Ser Trp Trp Pro Leu Pro Leu Leu  
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gly Pro Ala Gly Ala Arg Ala Gln Glu  
 20 25 30

Asp Glu Asp Gly Asp Tyr Glu Glu Leu Val Leu Ala Leu Arg Ser Glu  
 35 40 45

Glu Asp Gly Leu Ala Glu Ala Pro Glu His Gly Thr Thr Ala Thr Phe  
 50 55 60

His Arg Cys Ala Lys Asp Pro Trp Arg Leu Pro Gly Thr Tyr Val Val  
 65 70 75 80

Val Leu Lys Glu Glu Thr His Leu Ser Gln Ser Glu Arg Thr Ala Arg  
 85 90 95

Arg Leu Gln Ala Gln Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys Ile Leu  
 100 105 110

His Val Phe His Gly Leu Leu Pro Gly Phe Leu Val Lys Met Ser Gly  
 115 120 125

Asp Leu Leu Glu Leu Ala Leu Lys Leu Pro His Val Asp Tyr Ile Glu  
 130 135 140

Glu Asp Ser Ser Val Phe Ala Gln  
 145 150

5 <210> 330  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 330

Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Ile Pro Ala Trp  
 1 5 10

15 <210> 331  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 331

ES 2 670 576 T3

**Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Ile Pro Ala**  
**1 5 10**

5 <210> 332  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 332

**Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Ile Pro**  
**1 5 10**

15 <210> 333  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 333

**Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Ile**  
**1 5 10**

25 <210> 334  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético

35 <400> 334

**Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Ile Pro Ala Trp**  
**1 5 10**

40 <210> 335  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

45 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 335

**Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Ile Pro Ala Trp**  
**1 5 10**

50 <210> 336  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

55 <220>  
 <223> Péptido sintético

ES 2 670 576 T3

<400> 336

Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Ile Pro  
1 5 10

5

<210> 337  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

10

<220>  
<223> Péptido sintético

15

<400> 337

Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Ile  
1 5

20

<210> 338  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial

25

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 338

Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Ile Pro Ala Trp  
1 5 10

30

<210> 339  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

35

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 339

40

Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Ile Pro Ala  
1 5 10

45

<210> 340  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

50

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 340

Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Ile Pro  
1 5

55

<210> 341  
<211> 8  
<212> PRT

ES 2 670 576 T3

<213> Artificial  
<220>  
<223> Péptido sintético  
5  
<400> 341

**Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Ile**  
**1 5**

10 <210> 342  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial  
15 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 342

**Trp Asn Leu Glu Arg Ile Ile Pro Ala Trp**  
**1 5 10**

20 <210> 343  
<211> 9  
<212> PRT  
25 <213> Artificial  
<220>  
<223> Péptido sintético  
30 <400> 343

**Trp Asn Leu Glu Arg Ile Ile Pro Ala**  
**1 5**

35 <210> 344  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial  
40 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 344

**Trp Asn Leu Glu Arg Ile Ile Pro**  
**1 5**

45 <210> 345  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial  
50 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 345  
55

**Trp Asn Leu Glu Arg Ile Ile**  
**1 5**

ES 2 670 576 T3

5 <210> 346  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

10 <400> 346

**Asn Leu Glu Arg Ile Ile Pro Ala Trp**  
**1 5**

15 <210> 347  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

20 <400> 347

**Asn Leu Glu Arg Ile Ile Pro Ala**  
**1 5**

25 <210> 348  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 348

**Asn Leu Glu Arg Ile Ile Pro**  
**1 5**

35 <210> 349  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

45 <400> 349

**Asn Leu Glu Arg Ile Ile**  
**1 5**

50 <210> 350  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

55 <400> 350



ES 2 670 576 T3

**Leu Glu Arg Ile Ile Pro Ala Trp**  
**1 5**

5 <210> 351  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
10 <223> Péptido sintético  
  
<400> 351

**Leu Glu Arg Ile Ile Pro Ala**  
**1 5**

15 <210> 352  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
20 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 352

**Leu Glu Arg Ile Ile Pro**  
**1 5**

25  
  
30 <210> 353  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido sintético  
  
35 <400> 353

**Leu Glu Arg Ile Ile**  
**1 5**

40 <210> 354  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
45 <223> Péptido sintético  
  
<400> 354

**Glu Arg Ile Ile Pro Ala Trp**

50  
  
1 5  
  
<210> 355  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

|    |                         |   |
|----|-------------------------|---|
|    | <220>                   |   |
|    | <223> Péptido sintético |   |
|    | <400> 355               |   |
| 5  |                         |   |
|    |                         | <b>Glu Arg Ile Ile Pro Ala</b>                    |
|    |                         | <b>1                                        5</b> |
|    | <210> 356               |   |
|    | <211> 5                 |   |
| 10 | <212> PRT               |   |
|    | <213> Artificial        |   |
|    | <220>                   |   |
|    | <223> Péptido sintético |   |
| 15 | <400> 356               |   |
|    |                         | <b>Glu Arg Ile Ile Pro</b>                        |
|    |                         | <b>1                                        5</b> |
|    | <210> 357               |   |
|    | <211> 6                 |   |
| 20 | <212> PRT               |   |
|    | <213> Artificial        |   |
|    | <220>                   |   |
|    | <223> Péptido sintético |   |
| 25 | <400> 357               |   |
|    |                         | <b>Arg Ile Ile Pro Ala Trp</b>                    |
|    |                         | <b>1                                        5</b> |
| 30 |                         |   |
|    | <210> 358               |   |
|    | <211> 5                 |   |
|    | <212> PRT               |   |
| 35 | <213> Artificial        |   |
|    | <220>                   |   |
|    | <223> Péptido sintético |   |
| 40 | <400> 358               |   |
|    |                         | <b>Arg Ile Ile Pro Ala</b>                        |
|    |                         | <b>1                                        5</b> |
|    | <210> 359               |   |
|    | <211> 5                 |   |
| 45 | <212> PRT               |   |
|    | <213> Artificial        |   |
|    | <220>                   |   |
|    | <223> Péptido sintético |   |
| 50 | <400> 359               |   |
|    |                         | <b>Ile Ile Pro Ala Trp</b>                        |
|    |                         | <b>1                                        5</b> |

ES 2 670 576 T3

<210> 360  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 5 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 10 <400> 360  
  

|            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>Ile</b> | <b>Asn</b> | <b>Met</b> | <b>Ala</b> | <b>Trp</b> | <b>Phe</b> | <b>Pro</b> | <b>Glu</b> | <b>Asp</b> | <b>Gln</b> | <b>Gln</b> | <b>Val</b> | <b>Leu</b> |
| <b>1</b>   |            |            |            | <b>5</b>   |            |            |            |            | <b>10</b>  |            |            |            |

  
 <210> 361  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 20 <400> 361  
  

|            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>Ile</b> | <b>Asn</b> | <b>Met</b> | <b>Ala</b> | <b>Trp</b> | <b>Phe</b> | <b>Pro</b> | <b>Glu</b> | <b>Asp</b> | <b>Gln</b> | <b>Gln</b> | <b>Val</b> |
| <b>1</b>   |            |            |            | <b>5</b>   |            |            |            |            | <b>10</b>  |            |            |

  
 <210> 362  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 30  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <400> 362  
 35  

|            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>Ile</b> | <b>Asn</b> | <b>Met</b> | <b>Ala</b> | <b>Trp</b> | <b>Phe</b> | <b>Pro</b> | <b>Glu</b> | <b>Asp</b> | <b>Gln</b> | <b>Gln</b> |
| <b>1</b>   |            |            |            | <b>5</b>   |            |            |            |            | <b>10</b>  |            |

  
 <210> 363  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 40  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 45  
 <400> 363  
  

|            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>Ile</b> | <b>Asn</b> | <b>Met</b> | <b>Ala</b> | <b>Trp</b> | <b>Phe</b> | <b>Pro</b> | <b>Glu</b> | <b>Asp</b> | <b>Gln</b> |
| <b>1</b>   |            |            |            | <b>5</b>   |            |            |            |            | <b>10</b>  |

  
 <210> 364  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 50  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 55  
 <400> 364

**Ile Asn Met Ala Trp Phe Pro Glu Asp**  
**1 5**

5 <210> 365  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

10 <400> 365

**Ile Asn Met Ala Trp Phe Pro Glu**  
**1 5**

15 <210> 366  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 366

**Ile Asn Met Ala Trp Phe Pro**  
**1 5**

25 <210> 367  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético

35 <400> 367

**Ile Asn Met Ala Trp Phe**  
**1 5**

40 <210> 368  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

45 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 368

**Ile Asn Met Ala Trp**  
**1 5**

50 <210> 369  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

55 <220>

# ES 2 670 576 T3

<223> Péptido sintético

<400> 369

```

                    Asn Met Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Gln Val Leu
                1                 5                 10
5

```

<210> 370

<211> 11

<212> PRT

10 <213> Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

15 <400> 370

```

                    Asn Met Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Gln Val
                1                 5                 10

```

<210> 371

20 <211> 10

<212> **PRT**

**<213>** Artificial

<220>

25 <223> Péptido sintético

<400> 371

```

                    Asn Met Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Gln
                1                 5                 10

```

30 <210> 372

<211> 9

<212> PRT

35 <213> Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

40 <400> 372

```

                    Asn Met Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln
                1                 5

```

<210> 373

45 <211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

50 <223> Péptido sintético

<400> 373

```

                    Asn Met Ala Trp Phe Pro Glu Asp
                1                 5

```

55 <210> 374

<211> 7

<212> PRT

ES 2 670 576 T3

<213> Artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 5  
 <400> 374  
  
**Asn Met Ala Trp Phe Pro Glu**  
**1 5**  
  
 10  
 <210> 375  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 15  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <400> 375  
  
**Asn Met Ala Trp Phe Pro**  
**1 5**  
  
 20  
  
 <210> 376  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 25  
 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 30  
 <400> 376  
  
**Asn Met Ala Trp Phe**  
**1 5**  
  
 35  
 <210> 377  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 <220>  
 40  
 <223> Péptido sintético  
  
 <400> 377  
  
**Met Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Gln Val Leu**  
**1 5 10**  
  
 45  
 <210> 378  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 50  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <400> 378  
 55

ES 2 670 576 T3

**Met Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Gln Val**  
**1 5 10**

5 <210> 379  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 379

**Met Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Gln**  
**1 5**

15 <210> 380  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 380

**Met Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln**  
**1 5**

25 <210> 381  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 381

**Met Ala Trp Phe Pro Glu Asp**  
**1 5**

40 <210> 382  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

45 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 382

**Met Ala Trp Phe Pro Glu**  
**1 5**

50 <210> 383  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

55 <220>  
 <223> Péptido sintético

ES 2 670 576 T3

<400> 383

**Met Ala Trp Phe Pro**  
**1 5**

5 <210> 384  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 384

**Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Gln Val Leu**  
**1 5 10**

15 <210> 385  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético

25 <400> 385

**Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Gln Val**  
**1 5**

30 <210> 386  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

35 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 386

**Ala Trp Phe Pro Glu Asp Gln Gln**  
**1 5**

40 <210> 387  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

45 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 387

50 **Trp Phe Pro Glu Asp Gln Gln Val Leu**  
**1 5**

55 <210> 388  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>



ES 2 670 576 T3

<223> Péptido sintético  
 <400> 388

**Trp Phe Pro Glu Asp Gln Gln Val**  
**1 5**

5

<210> 389  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10

<220>  
 <223> Péptido sintético

15

<400> 389

**Trp Phe Pro Glu Asp Gln Gln**  
**1 5**

20

<210> 390  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

25

<220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 390

**Phe Pro Glu Asp Gln Gln Val Leu**  
**1 5**

30

<210> 391  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

35

<220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 391

40

**Phe Pro Glu Asp Gln Gln Val**  
**1 5**

45

<210> 392  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

50

<220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 392

**Phe Pro Glu Asp Gln Gln**  
**1 5**

55

<210> 393  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

ES 2 670 576 T3

<220>  
<223> Péptido sintético

5 <400> 393

**Pro Glu Asp Gln Gln Val Leu**  
**1 5**

<210> 394  
<211> 6  
10 <212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
15 <223> Péptido sintético

<400> 394

**Pro Glu Asp Gln Gln Val**  
**1 5**

20 <210> 395  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 395

**Pro Glu Asp Gln Gln**  
**1 5**

30 <210> 396  
<211> 6  
35 <212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

40 <400> 396

**Glu Asp Gln Gln Val Leu**  
**1 5**

45 <210> 397  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
50 <223> Péptido sintético

<400> 397

**Glu Asp Gln Gln Val**  
**1 5**

55 <210> 398  
<211> 5  
<212> PRT  
60 <213> Artificial

ES 2 670 576 T3

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 398

5

Asp Gln Gln Val Leu  
1 5

<210> 399  
<211> 692  
<212> PRT  
<213> Artificial

10

<220>  
<223> Péptido sintético

15

<400> 399

Met Gly Thr Val Ser Ser Arg Arg Ser Trp Trp Pro Leu Pro Leu Leu  
1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gly Pro Ala Gly Ala Arg Ala Gln Glu  
20 25 30

Asp Glu Asp Gly Asp Tyr Glu Glu Leu Val Leu Ala Leu Arg Ser Glu  
35 40 45

Glu Asp Gly Leu Ala Glu Ala Pro Glu His Gly Thr Thr Ala Thr Phe  
50 55 60

His Arg Cys Ala Lys Asp Pro Trp Arg Leu Pro Gly Thr Tyr Val Val  
65 70 75 80

Val Leu Lys Glu Glu Thr His Leu Ser Gln Ser Glu Arg Thr Ala Arg

ES 2 670 576 T3

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     |     | 90  |     |     |     | 95  |     |  |  |
| Arg | Leu | Gln | Ala | Gln | Ala | Ala | Arg | Arg | Gly | Tyr | Leu | Thr | Lys | Ile | Leu |  |  |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |  |  |
| His | Val | Phe | His | Gly | Leu | Leu | Pro | Gly | Phe | Leu | Val | Lys | Met | Ser | Gly |  |  |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |  |  |
| Asp | Leu | Leu | Glu | Leu | Ala | Leu | Lys | Leu | Pro | His | Val | Asp | Tyr | Ile | Glu |  |  |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     |     | 140 |     |     |     |  |  |
| Glu | Asp | Ser | Ser | Val | Phe | Ala | Gln | Ser | Ile | Pro | Trp | Asn | Leu | Glu | Arg |  |  |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |  |
| Ile | Thr | Pro | Pro | Arg | Tyr | Arg | Ala | Asp | Glu | Tyr | Gln | Pro | Pro | Asp | Gly |  |  |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |  |  |
| Gly | Ser | Leu | Val | Glu | Val | Tyr | Leu | Leu | Asp | Thr | Ser | Ile | Gln | Ser | Asp |  |  |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |  |
| His | Arg | Glu | Ile | Glu | Gly | Arg | Val | Met | Val | Thr | Asp | Phe | Glu | Asn | Val |  |  |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |  |
| Pro | Glu | Glu | Asp | Gly | Thr | Arg | Phe | His | Arg | Gln | Ala | Ser | Lys | Cys | Asp |  |  |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |  |
| Ser | His | Gly | Thr | His | Leu | Ala | Gly | Val | Val | Ser | Gly | Arg | Asp | Ala | Gly |  |  |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |  |
| Val | Ala | Lys | Gly | Ala | Ser | Met | Arg | Ser | Leu | Arg | Val | Leu | Asn | Cys | Gln |  |  |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |  |
| Gly | Lys | Gly | Thr | Val | Ser | Gly | Thr | Leu | Ile | Gly | Leu | Glu | Phe | Ile | Arg |  |  |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |  |
| Lys | Ser | Gln | Leu | Val | Gln | Pro | Val | Gly | Pro | Leu | Val | Val | Leu | Leu | Pro |  |  |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |  |
| Leu | Ala | Gly | Gly | Tyr | Ser | Arg | Val | Leu | Asn | Ala | Ala | Cys | Gln | Arg | Leu |  |  |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |  |
| Ala | Arg | Ala | Gly | Val | Val | Leu | Val | Thr | Ala | Ala | Gly | Asn | Phe | Arg | Asp |  |  |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |  |
| Asp | Ala | Cys | Leu | Tyr | Ser | Pro | Ala | Ser | Ala | Pro | Glu | Val | Ile | Thr | Val |  |  |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |  |  |
| Gly | Ala | Thr | Asn | Ala | Gln | Asp | Gln | Pro | Val | Thr | Leu | Gly | Thr | Leu | Gly |  |  |
|     |     |     | 340 |     |     |     | 345 |     |     |     |     |     | 350 |     |     |  |  |

ES 2 670 576 T3

Thr Asn Phe Gly Arg Cys Val Asp Leu Phe Ala Pro Gly Glu Asp Ile  
 355 360 365

Ile Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe Val Ser Gln Ser Gly  
 370 375 380

Thr Ser Gln Ala Ala Ala His Val Ala Gly Ile Ala Ala Met Met Leu  
 385 390 395 400

Ser Ala Glu Pro Glu Leu Thr Leu Ala Glu Leu Arg Gln Arg Leu Ile  
 405 410 415

His Phe Ser Ala Lys Asp Val Ile Asn Glu Ala Trp Phe Pro Glu Asp  
 420 425 430

Gln Arg Val Leu Thr Pro Asn Leu Val Ala Ala Leu Pro Pro Ser Thr  
 435 440 445

His Gly Ala Gly Trp Gln Leu Phe Cys Arg Thr Val Trp Ser Ala His  
 450 455 460

Ser Gly Pro Thr Arg Met Ala Thr Ala Val Ala Arg Cys Ala Pro Asp  
 465 470 475 480

Glu Glu Leu Leu Ser Cys Ser Ser Phe Ser Arg Ser Gly Lys Arg Arg  
 485 490 495

Gly Glu Arg Met Glu Ala Gln Gly Gly Lys Leu Val Cys Arg Ala His  
 500 505 510

Asn Ala Phe Gly Gly Glu Gly Val Tyr Ala Ile Ala Arg Cys Cys Leu  
 515 520 525

Leu Pro Gln Ala Asn Cys Ser Val His Thr Ala Pro Pro Ala Glu Ala  
 530 535 540

Ser Met Gly Thr Arg Val His Cys His Gln Gln Gly His Val Leu Thr  
 545 550 555 560

Gly Cys Ser Ser His Trp Glu Val Glu Asp Leu Gly Thr His Lys Pro  
 565 570 575

Pro Val Leu Arg Pro Arg Gly Gln Pro Asn Gln Cys Val Gly His Arg  
 580 585 590

Glu Ala Ser Ile His Ala Ser Cys Cys His Ala Pro Gly Leu Glu Cys  
 595 600 605

ES 2 670 576 T3

Lys Val Lys Glu His Gly Ile Pro Ala Pro Gln Glu Gln Val Thr Val  
610 615 620

Ala Cys Glu Glu Gly Trp Thr Leu Thr Gly Cys Ser Ala Leu Pro Gly  
625 630 635 640

Thr Ser His Val Leu Gly Ala Tyr Ala Val Asp Asn Thr Cys Val Val  
645 650 655

Arg Ser Arg Asp Val Ser Thr Thr Gly Ser Thr Ser Glu Gly Ala Val  
660 665 670

Thr Ala Val Ala Ile Cys Cys Arg Ser Arg His Leu Ala Gln Ala Ser  
675 680 685

Gln Glu Leu Gln  
690

5 <210> 400  
<211> 694  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 400

ES 2 670 576 T3

Met Gly Thr His Cys Ser Ala Trp Leu Arg Trp Pro Leu Leu Pro Leu  
 1 5 10 15

Leu Pro Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Cys Pro Thr Gly Ala  
 20 25 30

Gly Ala Gln Asp Glu Asp Gly Asp Tyr Glu Glu Leu Met Leu Ala Leu  
 35 40 45

Pro Ser Gln Glu Asp Gly Leu Ala Asp Glu Ala Ala His Val Ala Thr  
 50 55 60

Ala Thr Phe Arg Arg Cys Ser Lys Glu Ala Trp Arg Leu Pro Gly Thr  
 65 70 75 80

Tyr Ile Val Val Leu Met Glu Glu Thr Gln Arg Leu Gln Ile Glu Gln  
 85 90 95

Thr Ala His Arg Leu Gln Thr Arg Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Val Ile  
 100 105 110

Lys Val Leu His Ile Phe Tyr Asp Leu Phe Pro Gly Phe Leu Val Lys  
 115 120 125

ES 2 670 576 T3

Met Ser Ser Asp Leu Leu Gly Leu Ala Leu Lys Leu Pro His Val Glu  
130 135 140

Tyr Ile Glu Glu Asp Ser Phe Val Phe Ala Gln Ser Ile Pro Trp Asn  
145 150 155 160

Leu Glu Arg Ile Ile Pro Ala Trp His Gln Thr Glu Glu Asp Arg Ser  
165 170 175

Pro Asp Gly Ser Ser Gln Val Glu Val Tyr Leu Leu Asp Thr Ser Ile  
180 185 190

Gln Gly Ala His Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Asp Phe  
195 200 205

Asn Ser Val Pro Glu Glu Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser  
210 215 220

Lys Cys Asp Ser His Gly Thr His Leu Ala Gly Val Val Ser Gly Arg  
225 230 235 240

Asp Ala Gly Val Ala Lys Gly Thr Ser Leu His Ser Leu Arg Val Leu  
245 250 255

Asn Cys Gln Gly Lys Gly Thr Val Ser Gly Thr Leu Ile Gly Leu Glu  
260 265 270

Phe Ile Arg Lys Ser Gln Leu Ile Gln Pro Ser Gly Pro Leu Val Val  
275 280 285

Leu Leu Pro Leu Ala Gly Gly Tyr Ser Arg Ile Leu Asn Ala Ala Cys  
290 295 300

Arg His Leu Ala Arg Thr Gly Val Val Leu Val Ala Ala Ala Gly Asn  
305 310 315 320

Phe Arg Asp Asp Ala Cys Leu Tyr Ser Pro Ala Ser Ala Pro Glu Val  
325 330 335

Ile Thr Val Gly Ala Thr Asn Ala Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly  
340 345 350

Thr Leu Gly Thr Asn Phe Gly Arg Cys Val Asp Leu Phe Ala Pro Gly  
355 360 365

Lys Asp Ile Ile Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe Met Ser  
370 375 380



ES 2 670 576 T3

Gln Ser Gly Thr Ser Gln Ala Ala Ala His Val Ala Gly Ile Val Ala  
 385 390 395 400

Arg Met Leu Ser Arg Glu Pro Thr Leu Thr Leu Ala Glu Leu Arg Gln  
 405 410 415

Arg Leu Ile His Phe Ser Thr Lys Asp Val Ile Asn Met Ala Trp Phe  
 420 425 430

Pro Glu Asp Gln Gln Val Leu Thr Pro Asn Leu Val Ala Thr Leu Pro  
 435 440 445

Pro Ser Thr His Glu Thr Gly Gly Gln Leu Leu Cys Arg Thr Val Trp  
 450 455 460

Ser Ala His Ser Gly Pro Thr Arg Thr Ala Thr Ala Thr Ala Arg Cys  
 465 470 475 480

Ala Pro Glu Glu Glu Leu Leu Ser Cys Ser Ser Phe Ser Arg Ser Gly  
 485 490 495

Arg Arg Arg Gly Asp Trp Ile Glu Ala Ile Gly Gly Gln Gln Val Cys  
 500 505 510

Lys Ala Leu Asn Ala Phe Gly Gly Glu Gly Val Tyr Ala Val Ala Arg  
 515 520 525

Cys Cys Leu Val Pro Arg Ala Asn Cys Ser Ile His Asn Thr Pro Ala  
 530 535 540

Ala Arg Ala Gly Leu Glu Thr His Val His Cys His Gln Lys Asp His  
 545 550 555 560

Val Leu Thr Gly Cys Ser Phe His Trp Glu Val Glu Asp Leu Ser Val  
 565 570 575

Arg Arg Gln Pro Ala Leu Arg Ser Arg Arg Gln Pro Gly Gln Cys Val  
 580 585 590

Gly His Gln Ala Ala Ser Val Tyr Ala Ser Cys Cys His Ala Pro Gly  
 595 600 605

Leu Glu Cys Lys Ile Lys Glu His Gly Ile Ser Gly Pro Ser Glu Gln  
 610 615 620

Val Thr Val Ala Cys Glu Ala Gly Trp Thr Leu Thr Gly Cys Asn Val  
 625 630 635 640

ES 2 670 576 T3

Leu Pro Gly Ala Ser Leu Thr Leu Gly Ala Tyr Ser Val Asp Asn Leu  
 645 650 655

Cys Val Ala Arg Val His Asp Thr Ala Arg Ala Asp Arg Thr Ser Gly  
 660 665 670

Glu Ala Thr Val Ala Ala Ala Ile Cys Cys Arg Ser Arg Pro Ser Ala  
 675 680 685

Lys Ala Ser Trp Val Gln  
 690

5 <210> 401  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 401

Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Ile Gly Gly Cys  
 1 5 10

15 <210> 402  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 402

Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg Gly Gly Cys  
 1 5 10

30 <210> 403  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

35 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 403

Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Gly Gly Cys  
 1 5 10

40 <210> 404  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

45 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 404

ES 2 670 576 T3

**Cys Gly Gly Ser Gly Arg Asp Ala Gly Val Ala Lys Gly Ala**  
**1 5 10**

5 <210> 405  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 405

**Cys Gly Gly Ser Gly Arg Asp Ala Gly Val Ala Lys Gly Thr**  
**1 5 10**

15 <210> 406  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 406

**Arg Asp Ala Gly Val Ala Lys Gly Gly Cys**  
**1 5 10**

30 <210> 407  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

35 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 407

**Cys Ser Arg His Leu Ala Gln Ala Ser Gln Glu Leu Gln**  
**1 5 10**

40 <210> 408  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

45 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 408

**Cys Arg Ser Arg Pro Ser Ala Lys Ala Ser Trp Val Gln**  
**1 5 10**

55 <210> 409  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

60 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 409

ES 2 670 576 T3

**Cys Gly Gly Asp Tyr Glu Glu Leu Val Leu Ala Leu Arg**  
**1 5 10**

5 <210> 410  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 410

**Cys Gly Gly Asp Tyr Glu Glu Leu Met Leu Ala Leu Pro**  
**1 5 10**

15 <210> 411  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 411

**Leu Val Leu Ala Leu Arg Ser Glu Glu Asp Gly Gly Cys**  
**1 5 10**

30 <210> 412  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

35 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 412

**Leu Met Leu Ala Leu Pro Ser Gln Glu Asp Gly Gly Cys**  
**1 5 10**

40 <210> 413  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

45 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 413

**Ala Lys Asp Pro Trp Arg Leu Pro Gly Gly Cys**

50 **1 5 10**

<210> 414  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

55 <220>



ES 2 670 576 T3

**Phe Leu Val Lys Met Ser Ser Asp Leu Leu Gly Leu Ala Leu Lys Leu**  
**1 5 10 15**

**Pro Gly Gly Cys**  
**20**

5 <210> 419  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 419

**Cys Gly Gly Glu Glu Asp Ser Ser Val Phe Ala Gln**  
**1 5 10**

15 <210> 420  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 420

**Ser Arg His Leu Ala Gln Ala Ser Gln Glu Leu Gln**  
**1 5 10**

25 <210> 421  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 421

**Asp Tyr Glu Glu Leu Val Leu Ala Leu Arg**  
**1 5 10**

35 <210> 422  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

40 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 422

**Leu Val Leu Ala Leu Arg Ser Glu Glu Asp Gly**  
**1 5 10**

45 <210> 423  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

ES 2 670 576 T3

<220>  
<223> Péptido sintético

5 <400> 423

**Glu Glu Asp Ser Ser Val Phe Ala Gln**  
**1 5**

10 <210> 424  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 424

**Ser Gly Arg Asp Ala Gly Val Ala Lys Gly Thr**  
**1 5 10**

20 <210> 425  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 425

30 <210> 426  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial

35 <220>  
<223> Péptido sintético

40 <400> 426

**Arg Ser Arg Pro Ser Ala Lys Ala Ser Trp Val Gln**  
**1 5 10**

45 <210> 427  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

50 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 427

55 <210> 428  
<211> 17  
<212> PRT

**Leu Met Leu Ala Leu Pro Ser Gln Glu Asp**  
**1 5 10**





ES 2 670 576 T3

**Arg Cys Ala Lys Asp Pro Trp Arg**  
**1 5**

5  
<210> 433  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

10  
<220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 433

**Arg Cys Ala Lys Asp Pro Trp**  
**1 5**

15  
<210> 434  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

20  
<220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 434

**Arg Cys Ala Lys Asp Pro**  
**1 5**

25  
<210> 435  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

30  
<220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 435

**Arg Cys Ala Lys Asp**  
**1 5**

35  
<210> 436  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial

40  
<220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 436

**Cys Ala Lys Asp Pro Trp Arg Leu Pro Gly Thr**  
**1 5 10**

45  
<210> 437  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

50  
<220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 437

ES 2 670 576 T3

**Cys Ala Lys Asp Pro Trp Arg Leu Pro Gly**  
**1 5 10**

5 <210> 438  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
10 <223> Péptido sintético  
  
<400> 438

**Cys Ala Lys Asp Pro Trp Arg Leu Pro**  
**1 5**

15 <210> 439  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial  
20 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 439

**Cys Ala Lys Asp Pro Trp Arg Leu**  
**1 5**

25 <210> 440  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial  
30 <220>  
<223> Péptido sintético  
35 <400> 440

**Cys Ala Lys Asp Pro Trp Arg**

**1 5**

40 <210> 441  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial  
45 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 441

**Cys Ala Lys Asp Pro Trp**  
**1 5**

50 <210> 442  
<211> 5  
<212> PRT  
55 <213> Artificial  
  
<220>

ES 2 670 576 T3

<223> Péptido sintético

<400> 442

**Cys Ala Lys Asp Pro**  
**1 5**

5

<210> 443

<211> 10

<212> PRT

10 <213> Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

15

<400> 443

**Ala Lys Asp Pro Trp Arg Leu Pro Gly Thr**  
**1 5 10**

20

<210> 444

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25 <223> Péptido sintético

<400> 444

**Ala Lys Asp Pro Trp Arg Leu Pro Gly**  
**1 5**

30

<210> 445

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

35

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 445

40

**Ala Lys Asp Pro Trp Arg Leu Pro**  
**1 5**

<210> 446

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

45

<220>

<223> Péptido sintético

50

<400> 446

**Ala Lys Asp Pro Trp Arg Leu**  
**1 5**

55

<210> 447

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial

ES 2 670 576 T3

<220>  
<223> Péptido sintético

5 <400> 447

**Ala Lys Asp Pro Trp Arg**  
**1 5**

10 <210> 448  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 448

**Ala Lys Asp Pro Trp**  
**1 5**

20 <210> 449  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 449

30 <210> 450  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

**Lys Asp Pro Trp Arg Leu Pro Gly Thr**  
**1 5**

35 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 450

**Lys Asp Pro Trp Arg Leu Pro Gly**  
**1 5**

45 <210> 451  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

50 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 451

**Lys Asp Pro Trp Arg Leu Pro**  
**1 5**

55 <210> 452  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

60

ES 2 670 576 T3

<220>  
<223> Péptido sintético

5 <400> 452

**Lys Asp Pro Trp Arg Leu**  
**1 5**

<210> 453  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

10

<220>  
<223> Péptido sintético

15 <400> 453

**Lys Asp Pro Trp Arg**  
**1 5**

20

<210> 454  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

25

<220>  
<223> Péptido sintético

30 <400> 454

**Asp Pro Trp Arg Leu Pro Gly Thr**  
**1 5**

35

<210> 455  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

40

<220>  
<223> Péptido sintético

40 <400> 455

**Asp Pro Trp Arg Leu Pro Gly**  
**1 5**

45

<210> 456  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

50

<220>  
<223> Péptido sintético

50 <400> 456

**Asp Pro Trp Arg Leu Pro**  
**1 5**

55

<210> 457  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

60

ES 2 670 576 T3

<220>  
<223> Péptido sintético

5 <400> 457

**Asp Pro Trp Arg Leu**  
**1 5**

10 <210> 458  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 458

**Pro Trp Arg Leu Pro Gly Thr**  
**1 5**

20 <210> 459  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 459

30 <210> 460  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

**Pro Trp Arg Leu Pro Gly**  
**1 5**

35 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 460

**Pro Trp Arg Leu Pro**  
**1 5**

45 <210> 461  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

50 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 461

**Trp Arg Leu Pro Gly Thr**  
**1 5**

55 <210> 462  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

60

ES 2 670 576 T3

<220>  
<223> Péptido sintético

5 <400> 462

**Trp Arg Leu Pro Gly**  
**1 5**

10 <210> 463  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 463

**Arg Leu Pro Gly Thr**  
**1 5**

20 <210> 464  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 464

30 **Ala Gln Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys Ile**  
**1 5 10**

35 <210> 465  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial

40 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 465

**Ala Gln Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys**  
**1 5 10**

45 <210> 466  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

50 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 466

**Ala Gln Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr**  
**1 5 10**

55 <210> 467  
<211> 9

<212> PRT  
<213> Artificial

5 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 467

**Ala Gln Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu**  
**1 5**

10 <210> 468  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 468

20 **Ala Gln Ala Ala Arg Arg Gly Tyr**  
**1 5**

25 <210> 469  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 469

**Ala Gln Ala Ala Arg Arg Gly**  
**1 5**

35 <210> 470  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

40 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 470

**Ala Gln Ala Ala Arg Arg**  
**1 5**

45 <210> 471  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

50 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 471

**Ala Gln Ala Ala Arg**  
**1 5**



ES 2 670 576 T3

5 <210> 472  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

10 <400> 472

**Gln Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys Ile Leu**  
**1 5 10**

15 <210> 473  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

20 <400> 473

**Gln Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys Ile**  
**1 5 10**

25 <210> 474  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 474

**Gln Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys**  
**1 5 10**

35 <210> 475  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

45 <400> 475

**Gln Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr**  
**1 5**

50 <210> 476  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

55 <400> 476

ES 2 670 576 T3

**Gln Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu**  
**1 5**

5 <210> 477  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido sintético  
  
10 <400> 477

**Gln Ala Ala Arg Arg Gly Tyr**  
**1 5**

15 <210> 478  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
20 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 478

**Gln Ala Ala Arg Arg Gly**  
**1 5**

25 <210> 479  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
30 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
35 <400> 479

**Gln Ala Ala Arg Arg**  
**1 5**

40 <210> 480  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
45 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 480

**Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys Ile Leu**  
**1 5 10**

50 <210> 481  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
55 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
60 <400> 481

ES 2 670 576 T3

**Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys Ile**  
**1 5 10**

5 <210> 482  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 482

**Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys**  
**1 5**

15 <210> 483  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 483

**Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr**  
**1 5**

25 <210> 484  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético  
35 <400> 484

**Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu**  
**1 5**

40 <210> 485  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 485

**Ala Ala Arg Arg Gly Tyr**  
**1 5**

50 <210> 486  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

55 <220>  
<223> Péptido sintético  
60 <400> 486

ES 2 670 576 T3

**Ala Ala Arg Arg Gly**  
**1 5**

5 <210> 487  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 487

**Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys Ile Leu**  
**1 5 10**

15 <210> 488  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 488

**Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys Ile**  
**1 5**

25 <210> 489  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 489

**Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys**  
**1 5**

35 <210> 490  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

40 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 490

**Ala Arg Arg Gly Tyr Leu**  
**1 5**

45 <210> 491  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

50 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 491

55

60

ES 2 670 576 T3

**Ala Arg Arg Gly Tyr Leu**  
**1 5**

5 <210> 492  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 492

**Ala Arg Arg Gly Tyr**  
**1 5**

15 <210> 493  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 493

**Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys Ile Leu**  
**1 5**

25 <210> 494  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético

35 <400> 494

**Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys Ile**  
**1 5**

40 <210> 495  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 495

**Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys**  
**1 5**

50 <210> 496  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

55 <220>  
<223> Péptido sintético

60 <400> 496

**Arg Arg Gly Tyr Leu Thr**  
**1 5**

5 <210> 497  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 497

**Arg Arg Gly Tyr Leu**  
**1 5**

15 <210> 498  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 498

**Arg Gly Tyr Leu Thr Lys Ile Leu**  
**1 5**

25 <210> 499  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético

35 <400> 499

**Arg Gly Tyr Leu Thr Lys Ile**  
**1 5**

40 <210> 500  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

45 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 500

**Arg Gly Tyr Leu Thr Lys**  
**1 5**

50 <210> 501  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

55 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 501

ES 2 670 576 T3

**Arg Gly Tyr Leu Thr**  
**1 5**

5 <210> 502  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 502

**Gly Tyr Leu Thr Lys Ile Leu**  
**1 5**

15 <210> 503  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 503

25

**Gly Tyr Leu Thr Lys Ile**  
**1 5**

30 <210> 504  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

35 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 504

**Gly Tyr Leu Thr Lys**  
**1 5**

40 <210> 505  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 505

**Tyr Leu Thr Lys Ile Leu**

50 **1 5**

<210> 506  
<211> 5  
<212> PRT

ES 2 670 576 T3

<213> Artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 5  
 <400> 506  
  
                   **Tyr Leu Thr Lys Ile**  
                   **1                  5**  
  
 10    <210> 507  
       <211> 5  
       <212> PRT  
       <213> Artificial  
  
 15    <220>  
       <223> Péptido sintético  
  
       <400> 507  
  
                   **Leu Thr Lys Ile Leu**  
                   **1                  5**  
  
 20  
  
       <210> 508  
       <211> 12  
       <212> PRT  
 25    <213> Artificial  
  
       <220>  
       <223> Péptido sintético  
  
 30    <400> 508  
  
                   **Arg Cys Ser Lys Glu Ala Trp Arg Leu Pro Gly Thr**  
                   **1                  5                  10**  
  
 35    <210> 509  
       <211> 11  
       <212> PRT  
       <213> Artificial  
  
       <220>  
 40    <223> Péptido sintético  
  
       <400> 509  
  
                   **Arg Cys Ser Lys Glu Ala Trp Arg Leu Pro Gly**  
                   **1                  5                  10**  
  
 45  
  
       <210> 510  
       <211> 10  
       <212> PRT  
       <213> Artificial  
  
 50    <220>  
       <223> Péptido sintético  
  
       <400> 510  
  
 55    **Arg Cys Ser Lys Glu Ala Trp Arg Leu Pro**  
       **1                  5                  10**  
  
       <210> 511  
       <211> 9



<212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 <220>  
 5 <223> Péptido sintético  
  
 <400> 511  
  
**Arg Cys Ser Lys Glu Ala Trp Arg Leu**  
**1 5**  
 10  
 <210> 512  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 15  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <400> 512  
 20  
**Arg Cys Ser Lys Glu Ala Trp Arg**  
**1 5**  
  
 <210> 513  
 <211> 7  
 25 <212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 30  
 <400> 513  
  
**Arg Cys Ser Lys Glu Ala Trp**  
**1 5**  
 35  
 <210> 514  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 40  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <400> 514  
  
**Arg Cys Ser Lys Glu Ala**  
**1 5**  
 45  
 <210> 515  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 50 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 55  
 <400> 515  
  
**Arg Cys Ser Lys Glu**  
**1 5**  
  
 <210> 516

ES 2 670 576 T3

<211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

5

<220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 516

**Cys Ser Lys Glu Ala Trp Arg Leu Pro Gly Thr**  
**1 5 10**

10

<210> 517  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

15

<220>  
 <223> Péptido sintético

20

<400> 517

**Cys Ser Lys Glu Ala Trp Arg Leu Pro Gly**  
**1 5 10**

25

<210> 518  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30

<220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 518

**Cys Ser Lys Glu Ala Trp Arg Leu Pro**  
**1 5**

35

<210> 519  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

40

<220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 519

45

**Cys Ser Lys Glu Ala Trp Arg Leu**  
**1 5**

50

<210> 520  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

55

<220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 520

**Cys Ser Lys Glu Ala Trp Arg**  
**1 5**

ES 2 670 576 T3

5 <210> 521  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

10 <400> 521

**Cys Ser Lys Glu Ala Trp**  
**1 5**

15 <210> 522  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

20 <400> 522

**Cys Ser Lys Glu Ala**  
**1 5**

25 <210> 523  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 523

**Ser Lys Glu Ala Trp Arg Leu Pro Gly Thr**  
**1 5 10**

35 <210> 524  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

45 <400> 524

**Ser Lys Glu Ala Trp Arg Leu Pro Gly**  
**1 5**

50 <210> 525  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

55 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 525

ES 2 670 576 T3

**Ser Lys Glu Ala Trp Arg Leu Pro**  
**1 5**

5 <210> 526  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 526

**Ser Lys Glu Ala Trp Arg Leu**  
**1 5**

15 <210> 527  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 527

**Ser Lys Glu Ala Trp Arg**  
**1 5**

25 <210> 528  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético

35 <400> 528

**Ser Lys Glu Ala Trp**  
**1 5**

40 <210> 529  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 529

**Lys Glu Ala Trp Arg Leu Pro Gly Thr**  
**1 5**

50 <210> 530  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

55 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 530

ES 2 670 576 T3

**Lys Glu Ala Trp Arg Leu Pro Gly**  
**1 5**

5 <210> 531  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 531

**Lys Glu Ala Trp Arg Leu Pro**  
**1 5**

15 <210> 532  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 532

**Lys Glu Ala Trp Arg Leu**  
**1 5**

25 <210> 533  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
35 <400> 533

**Lys Glu Ala Trp Arg**  
**1 5**

40 <210> 534  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 534

**Glu Ala Trp Arg Leu Pro Gly Thr**  
**1 5**

50 <210> 535  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

55 <220>  
<223> Péptido sintético

ES 2 670 576 T3

<400> 535

**Glu Ala Trp Arg Leu Pro Gly**  
**1 5**

5 <210> 536  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 536

**Glu Ala Trp Arg Leu Pro**  
**1 5**

15  
20 <210> 537  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

25 <400> 537

**Glu Ala Trp Arg Leu**  
**1 5**

30 <210> 538  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

35 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 538

**Ala Trp Arg Leu Pro Gly Thr**  
**1 5**

40 <210> 539  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 539

50  
**Ala Trp Arg Leu Pro Gly**  
**1 5**

55 <210> 540  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>

ES 2 670 576 T3

<223> Péptido sintético

<400> 540

5

**Ala Trp Arg Leu Pro**  
**1 5**

<210> 541

<211> 6

<212> PRT

10 <213> Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

15

<400> 541

**Trp Arg Leu Pro Gly Thr**  
**1 5**

<210> 542

20

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25

<223> Péptido sintético

<400> 542

**Trp Arg Leu Pro Gly**  
**1 5**

30

<210> 543

<211> 5

<212> PRT

35

<213> Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 543

40

**Arg Leu Pro Gly Thr**  
**1 5**

<210> 544

45

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

50

<400> 544

**Thr Arg Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Val Ile Lys Val Leu**  
**1 5 10**

55

<210> 545

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

ES 2 670 576 T3

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 545

5

**Thr Arg Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Val Ile Lys Val**  
**1 5 10**

<210> 546  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial

10

<220>  
<223> Péptido sintético

15

<400> 546

**Thr Arg Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Val Ile Lys**  
**1 5 10**

20

<210> 547  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

25

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 547

30

**Thr Arg Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Val Ile**  
**1 5 10**

35

<210> 548  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

40

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 548

**Thr Arg Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Val**  
**1 5**

45

<210> 549  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

50

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 549

55

**Thr Arg Ala Ala Arg Arg Gly Tyr**  
**1 5**

<210> 550  
<211> 7



ES 2 670 576 T3

<212> PRT  
<213> Artificial

5 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 550

**Thr Arg Ala Ala Arg Arg Gly**  
**1 5**

10 <210> 551  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 551

20 **Thr Arg Ala Ala Arg Arg**  
**1 5**

25 <210> 552  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 552

**Thr Arg Ala Ala Arg**  
**1 5**

35 <210> 553  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Artificial

40 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 553

**Arg Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Val Ile Lys Val Leu**  
**1 5 10**

45 <210> 554  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial

50 <220>  
<223> Péptido sintético

55 <400> 554

**Arg Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Val Ile Lys Val**  
**1 5 10**

# ES 2 670 576 T3

5 <210> 555  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

10 <400> 555

**Arg Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Val Ile Lys**  
 1 5 10

15 <210> 556  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

20 <400> 556

**Arg Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Val Ile**  
 1 5

25 <210> 557  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 557

**Arg Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Val**  
 1 5

35 <210> 558  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

45 <400> 558

**Arg Ala Ala Arg Arg Gly Tyr**  
 1 5

50 <210> 559  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

55 <400> 559

**Arg Ala Ala Arg Arg Gly**  
 1 5

ES 2 670 576 T3

5 <210> 560  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido sintético  
  
10 <400> 560

**Arg Ala Ala Arg Arg**  
**1 5**

15 <210> 561  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
20 <223> Péptido sintético  
  
<400> 561

**Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Val Ile Lys Val Leu**  
**1 5 10**

25 <210> 562  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
30 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 562

**Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Val Ile Lys Val**  
**1 5 10**

35 <210> 563  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
40 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
45 <400> 563

**Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Val Ile Lys**  
**1 5**

50 <210> 564  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
55 <220>  
<223> Péptido sintético  
  
<400> 564

ES 2 670 576 T3

**Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Val Ile**  
**1 5**

5 <210> 565  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 565

**Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Val**  
**1 5**

15 <210> 566  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 566

**Ala Ala Arg Arg Gly Tyr**  
**1 5**

25 <210> 567  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético

35 <400> 567

**Ala Ala Arg Arg Gly**  
**1 5**

40 <210> 568  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 568

**Ala Arg Arg Gly Tyr Val Ile Lys Val Leu**  
**1 5 10**

50 <210> 569  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

55 <220>  
<223> Péptido sintético

ES 2 670 576 T3

<400> 569

**Ala Arg Arg Gly Tyr Val Ile Lys Val**  
**1 5**

5

<210> 570  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

10

<220>  
<223> Péptido sintético

15

<400> 570

**Ala Arg Arg Gly Tyr Val Ile Lys**

**1**

**5**

20

<210> 571  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

25

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 571

**Ala Arg Arg Gly Tyr Val Ile**  
**1 5**

30

<210> 572  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

35

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 572

**Ala Arg Arg Gly Tyr Val**  
**1 5**

40

<210> 573  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

45

<220>  
<223> Péptido sintético

50

<400> 573

**Ala Arg Arg Gly Tyr**  
**1 5**

55

<210> 574  
<211> 9

ES 2 670 576 T3

<212> PRT  
<213> Artificial

5 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 574

**Arg Arg Gly Tyr Val Ile Lys Val Leu**  
**1 5**

10 <210> 575  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 575

20 **Arg Arg Gly Tyr Val Ile Lys Val**  
**1 5**

25 <210> 576  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 576

**Arg Arg Gly Tyr Val Ile Lys**  
**1 5**

35 <210> 577  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

40 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 577

**Arg Arg Gly Tyr Val Ile**  
**1 5**

45 <210> 578  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

50 <220>  
<223> Péptido sintético

55 <400> 578

**Arg Arg Gly Tyr Val**  
**1 5**

ES 2 670 576 T3

5 <210> 579  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

10 <400> 579

**Arg Gly Tyr Val Ile Lys Val Leu**  
**1 5**

15 <210> 580  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

20 <400> 580

**Arg Gly Tyr Val Ile Lys Val**  
**1 5**

25 <210> 581  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 581

**Arg Gly Tyr Val Ile Lys**  
**1 5**

35 <210> 582  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

40 <400> 582

**Arg Gly Tyr Val Ile**  
**1 5**

45 <210> 583  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

50 <400> 583

55 <210> 583  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

<400> 583

ES 2 670 576 T3

**Gly Tyr Val Ile Lys Val Leu**  
**1 5**

5 <210> 584  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 584

**Gly Tyr Val Ile Lys Val**  
**1 5**

15 <210> 585  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 585

**Gly Tyr Val Ile Lys**  
**1 5**

25

30 <210> 586  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

35 <400> 586

**Tyr Val Ile Lys Val Leu**  
**1 5**

40 <210> 587  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Péptido sintético

<400> 587

**Tyr Val Ile Lys Val**  
**1 5**

50 <210> 588  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

55 <220>



<223> Péptido sintético  
 <400> 588

**Val Ile Lys Val Leu**  
**1 5**

5

<210> 589  
 <211> 21  
 <212> ADN  
 <213> Artificial

10

<220>  
 <223> Péptido sintético

15

<400> 589  
 tcgtcgtttt tcggtcctt t 21

20

<210> 590  
 <211> 21  
 <212> ADN  
 <213> Artificial

25

<220>  
 <223> Péptido sintético

30

<400> 590  
 tcgtcgtttt tcggtcgttt t 21

35

<210> 591  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Artificial

40

<220>  
 <223> Péptido sintético

45

<400> 591  
 tcgtcgtttt gtcgttttgt cgtt 24

50

<210> 592  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Artificial

55

<220>  
 <223> Péptido sintético

60

<400> 592  
 tcgtcgtttc gtcgttttgt cgtt 24

65

<210> 593  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Artificial

70

<220>  
 <223> Péptido sintético

75

<400> 593  
 tcgtcgtttt gtcgtttttt tcga 24

80

<210> 594  
 <211> 22

<212> ADN  
 <213> Artificial  
  
 <220>  
 5 <223> Péptido sintético  
  
 <400> 594  
 tcgctcgtt cggcgcgcgc cg 22  
  
 10 <210> 595  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
  
 15 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <400> 595  
 tcgtcgaagt tcggcgcgcg ccg 23  
  
 20 <210> 596  
 <211> 21  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
  
 25 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <400> 596  
 30 tcggacgttc ggcgcgcgcc g 21  
  
 <210> 597  
 <211> 19  
 <212> ADN  
 35 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <400> 597  
 40 tcggacgttc ggcgcgcgcc 19  
  
 <210> 598  
 <211> 20  
 <212> ADN  
 45 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <400> 598  
 50 tcgctcgtt cggcgcgccg 20  
  
 <210> 599  
 <211> 20  
 <212> ADN  
 55 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <400> 599  
 60 tcgacgttcg gcgcgcgccg 20

<210> 600  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 5  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 600  
 10 **tcgacgttcg gcgcgccg** 18  
 <210> 601  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 15 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 20 <400> 601  
**tcgcgtcgtt cggcgcgcg** 18  
 <210> 602  
 <211> 22  
 <212> ADN  
 25 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 30 <400> 602  
**tcgcgcgctt cggcgcgcgc cg** 22  
 <210> 603  
 <211> 22  
 <212> ADN  
 35 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 40 <400> 603  
**tcgtcgtttt cggcgcgcgc cg** 22  
 <210> 604  
 <211> 22  
 <212> ADN  
 45 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 50 <400> 604  
**tcgtcgtttt cggcggccgc cg** 22  
 55 <210> 605  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 60 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 605

|    |  |    |
|----|--|----|
|    | tcgtcgtttt acggcgccgt gccg                             | 24 |
| 5  | <210> 606<br><211> 23<br><212> ADN<br><213> Artificial |    |
| 10 | <220><br><223> Péptido sintético                       |    |
|    | <400> 606<br>tcgtcgtttt cggcgcgcg cgt                  | 23 |
| 15 | <210> 607<br><211> 23<br><212> ADN<br><213> Artificial |    |
| 20 | <220><br><223> Péptido sintético                       |    |
|    | <400> 607<br>tcgtcgacga tcggcgcgcg ccg                 | 23 |
| 25 |  |    |

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Un inmunógeno que comprende al menos un péptido antigénico de PCSK9 unido a un vehículo inmunogénico en el que el péptido antigénico de PCSK9 se selecciona del grupo que consiste en las SEQ ID NO 182 a 226 o 330 a 359 y en el que dicho vehículo inmunogénico se selecciona entre Toxoide Diftérico, CRM197 o una VLP seleccionada entre VLP de HBcAg, HBsAg, Qbeta, PP7, PPV o Virus Norwalk.
2. Un inmunógeno de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho vehículo inmunogénico se selecciona entre CRM197 o VLP de Qbeta.
- 10 3. Un inmunógeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que el péptido antigénico de PCSK9 se selecciona entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO 184, 186, 187, 188 y 332. SEQ ID NOSEQ ID NOSEQ ID NOSEQ ID NOSEQ ID NOSEQ ID NOSEQ ID NOSEQ ID NOSEQ ID NOSEQ ID NOSEQ ID NOSEQ ID NO
4. El inmunógeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho péptido antigénico de PCSK9 comprende uno de entre:
- 15 - en su extremo C un engarce que tiene la fórmula  $(G)_nC$ ,  $(G)_nSC$  o  $(G)_nK$  en la que n es un número entero elegido del grupo que consiste en 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10,
- en su extremo N un engarce que tiene la fórmula  $C(G)_n$ ,  $CS(G)_n$  o  $K(G)_n$  en la que n es un número entero elegido del grupo que consiste en 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10,
- 20 - en su extremo C un engarce que tiene la fórmula  $(G)_nC$ ,  $(G)_nSC$  o  $(G)_nK$  que n es un número entero elegido del grupo que consiste en 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10, y en su extremo N un engarce que tiene la fórmula  $C(G)_n$ ,  $CS(G)_n$  o  $K(G)_n$  que n es un número entero elegido del grupo que consiste en 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10.
5. El inmunógeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho péptido antigénico de PCSK9 comprende uno de entre:
- 25 - en su extremo C un engarce que tiene la fórmula  $(G)_nC$ ,  $(G)_nSC$  o  $(G)_nK$  en la que n es un número entero elegido del grupo que consiste en 0, 1 o 2,
- en su extremo N un engarce que tiene la fórmula  $C(G)_n$ ,  $CS(G)_n$  o  $K(G)_n$  en la que n es un número entero elegido del grupo que consiste en 0, 1 o 2,
- en su extremo C un engarce que tiene la fórmula  $(G)_nC$ ,  $(G)_nSC$  o  $(G)_nK$  en la que n es un número entero elegido del grupo que consiste en 0, 1 o 2, y en su extremo N un engarce que tiene la fórmula  $C(G)_n$ ,  $CS(G)_n$  o  $K(G)_n$  en la que n es un número entero elegido del grupo que consiste en 0, 1 o 2.
- 30 6. El inmunógeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho péptido antigénico de PCSK9 comprende además una cisteína en su extremo C.
7. El inmunógeno de acuerdo la reivindicación 6, en el que dicho péptido antigénico de PCSK9 comprende además un grupo CG o una cisteína en su extremo N.
- 35 8. El inmunógeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho péptido antigénico de PCSK9 comprende además un grupo CGG en su extremo N.
9. El inmunógeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho péptido antigénico de PCSK9 comprende además una GGC en su extremo C.
- 40 10. El inmunógeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho péptido antigénico de PCSK9 se cicla y comprende una cisteína, un fragmento  $(G)_nC$  o un fragmento  $C(G)_n$  en el que n es un número entero elegido del grupo que consiste en 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10.
11. El inmunógeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho péptido antigénico de PCSK9 se cicla y comprende una cisteína, un fragmento GC o un fragmento CG.
12. El inmunógeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho péptido antigénico de PCSK9 comprende además una KG o una KGG en su extremo N.
- 45 13. El inmunógeno de acuerdo con la reivindicación 4, en el que dicho péptido antigénico de PCSK9 que comprende un enlazador se selecciona del grupo que consiste en las SEQ ID NO 317, 401, 402 y 403.
14. Un inmunógeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que el péptido antigénico de PCSK9 está limitado conformacionalmente.
- 50 15. El inmunógeno de acuerdo con la reivindicación 14, en el que el péptido antigénico de PCSK9 se selecciona entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO 317, 401, 402 y 403.
16. El inmunógeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en el que dicho inmunógeno

puede, cuando se administra a un sujeto, reducir el nivel de colesterol-LDL en la sangre de dicho sujeto al menos en un 2%, 5%, 10%, 20%, 30% o 50%.

17. Una composición que comprende al menos dos inmunógenos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16.
- 5 18. Una composición inmunogénica que comprende un inmunógeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, o una composición de inmunógenos de acuerdo con la reivindicación 17 que comprende además al menos un adyuvante.
19. Una composición inmunogénica de acuerdo con la reivindicación 18, en la que dicho adyuvante se selecciona entre alumbre, CpG ODN, QS21 e Iscomatrix.
- 10 20. Una composición farmacéutica que comprende el inmunógeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, o una composición de inmunógenos de acuerdo con la reivindicación 17 o la composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 19, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
21. El inmunógeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, o una composición de inmunógenos de acuerdo con la reivindicación 17, o la composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 19, o la  
15 composición farmacéutica de la reivindicación 20 para su uso como un medicamento.
22. El inmunógeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, o una composición de inmunógenos de acuerdo con la reivindicación 17, o la composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 19, o la composición farmacéutica de la reivindicación 20 para su uso en un procedimiento de prevención, alivio o tratamiento de un trastorno relacionado con PCSK9.
- 20 23. El inmunógeno, composición inmunogénica o composición farmacéutica para su uso de la reivindicación 22 en el que dicho trastorno relacionado con PCSK9 es un nivel elevado de colesterol-LDL o una afección asociada con un nivel elevado de colesterol-LDL.
24. El inmunógeno, composición inmunogénica o composición farmacéutica para su uso de la reivindicación 22 en el que dicho trastorno relacionado con PCSK9 se selecciona entre un trastorno de lípidos tal como hiperlipidemia, hiperlipidemia de tipo I, tipo II, tipo III, tipo IV o tipo V, hipertrigliceridemia secundaria, hipercolesterolemia, hipercolesterolemia familiar, xantomatosis, deficiencia de colesterol acetiltransferasa; una afección arteriosclerótica (por ejemplo, aterosclerosis), una arteriopatía coronaria y una enfermedad cardiovascular.
- 25 25. El inmunógeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, o una composición de inmunógeno de acuerdo con la reivindicación 17, o la composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 19 para su uso en la prevención, el alivio o el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.
- 30 26. Un ácido nucleico que codifica el inmunógeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16.
27. Un vector de expresión que comprende el ácido nucleico de la reivindicación 26.
28. Una célula huésped que comprende el vector de expresión de la reivindicación 27.

**Figura 1**

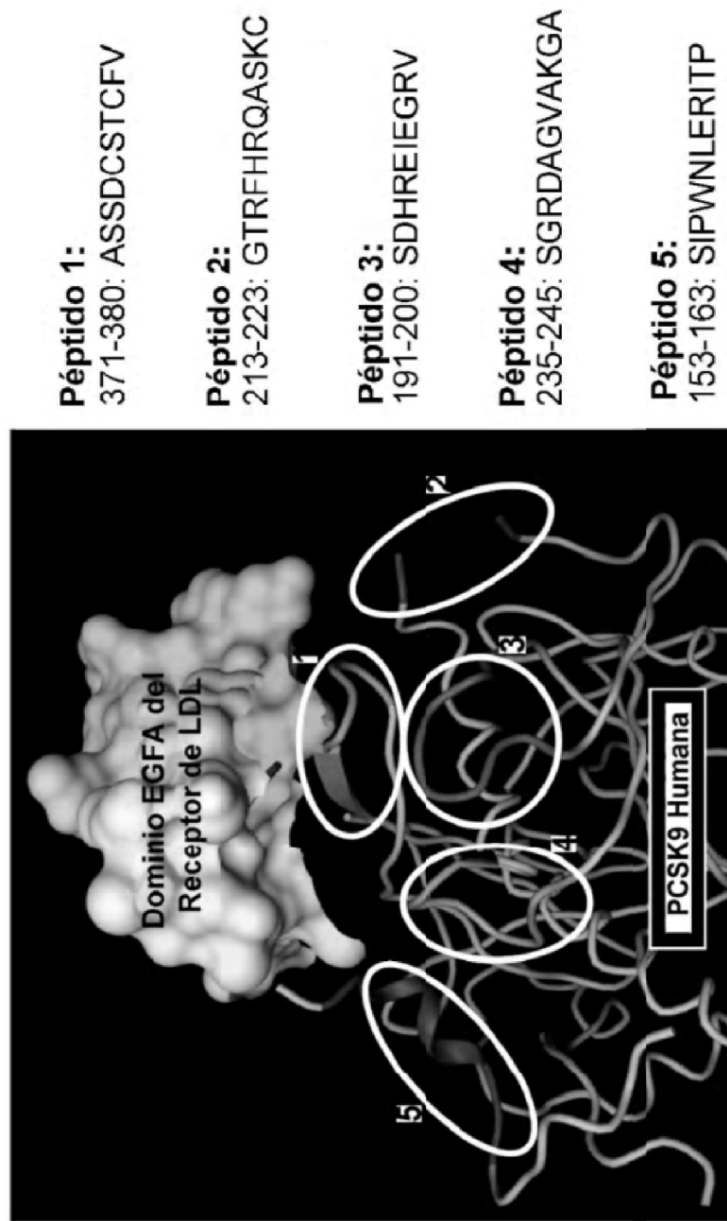
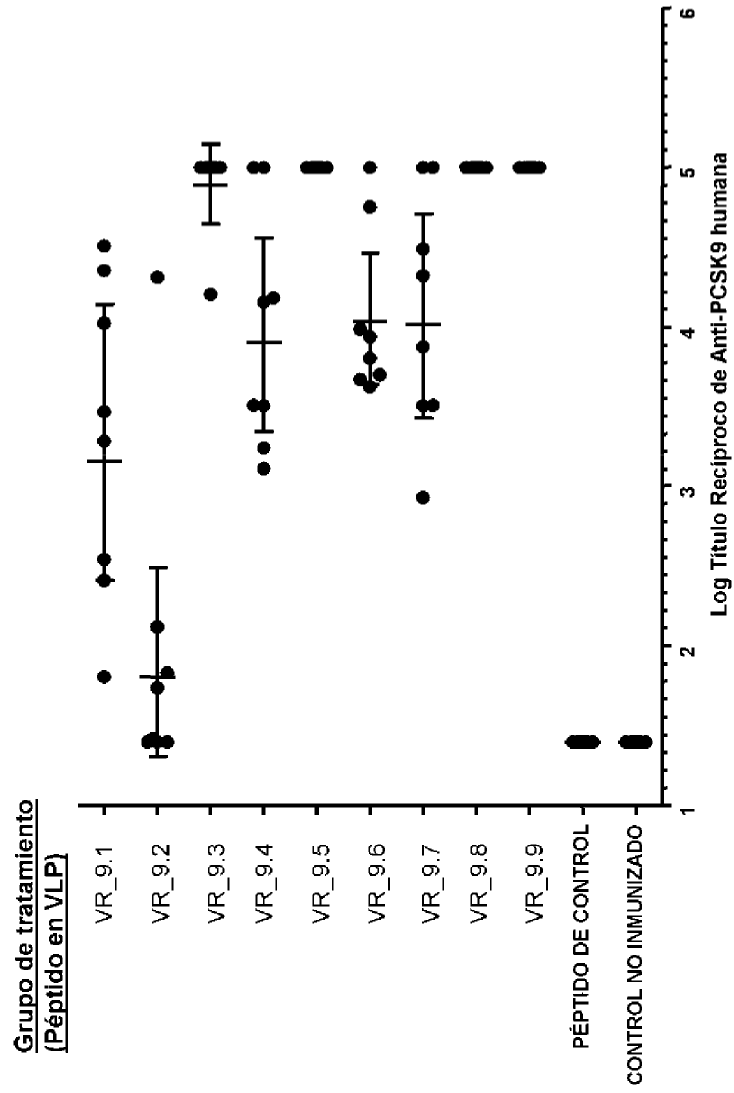


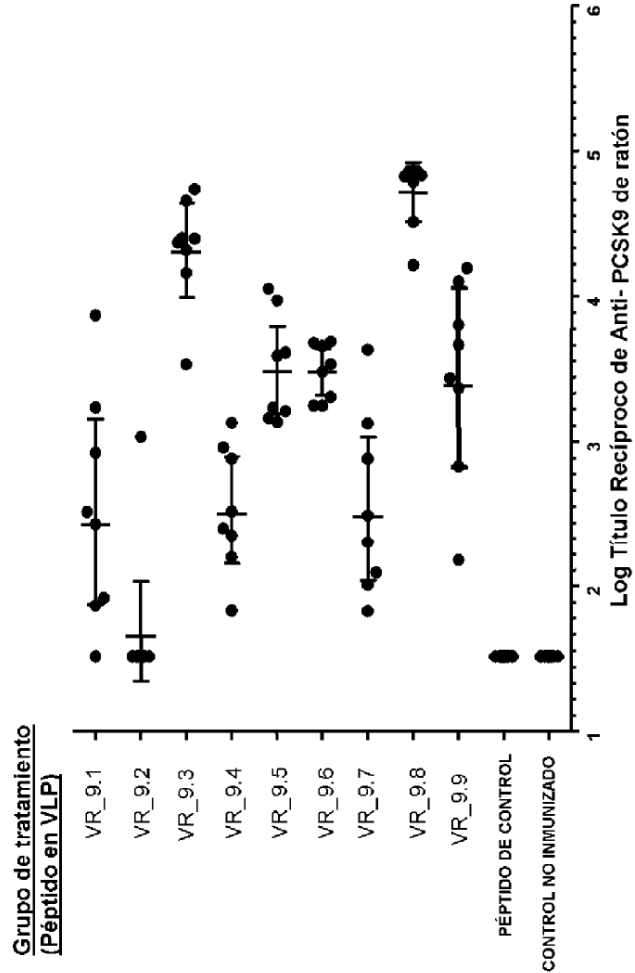
Figura 2



Grupos de tratamiento n = 8. Cada mancha representa el título recíproco de anticuerpo para un ratón. Las medias +/- ET se representan por líneas



**Figura 3**  
 Estudio exploratorio de péptidos de PCSK9  
 Ratones individuales n = 1 (20-04-09)



Grupos de tratamiento n = 8. Cada mancha representa el título recíproco de anticuerpo para un ratón. Las medias +/- ET se representan por líneas

Figura 4

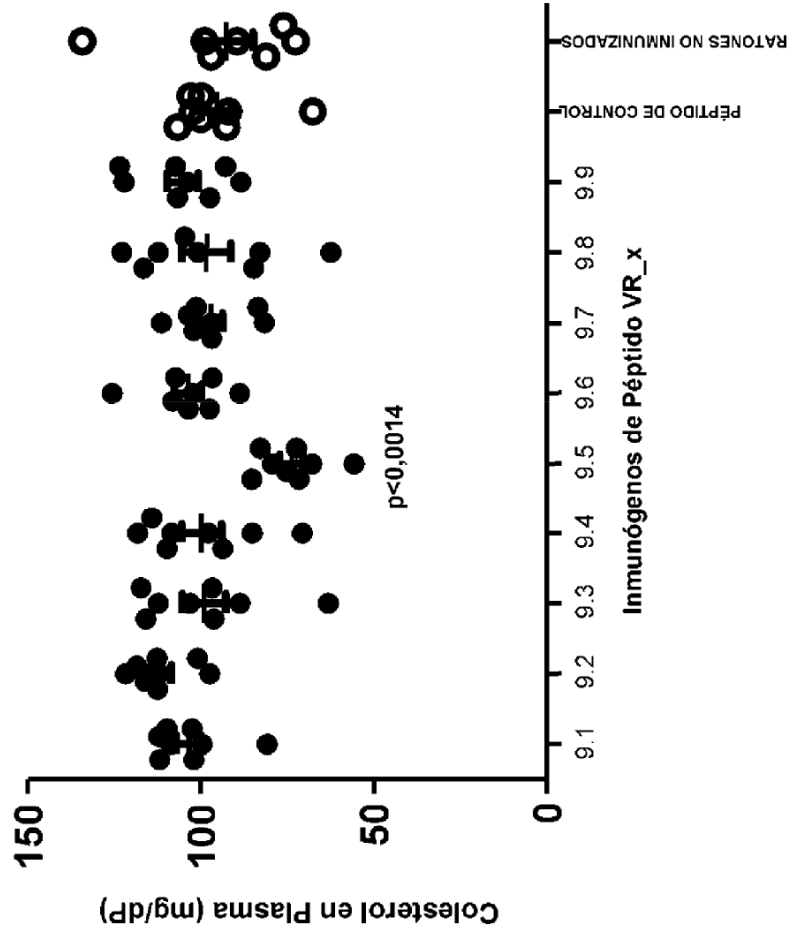


Figura 5

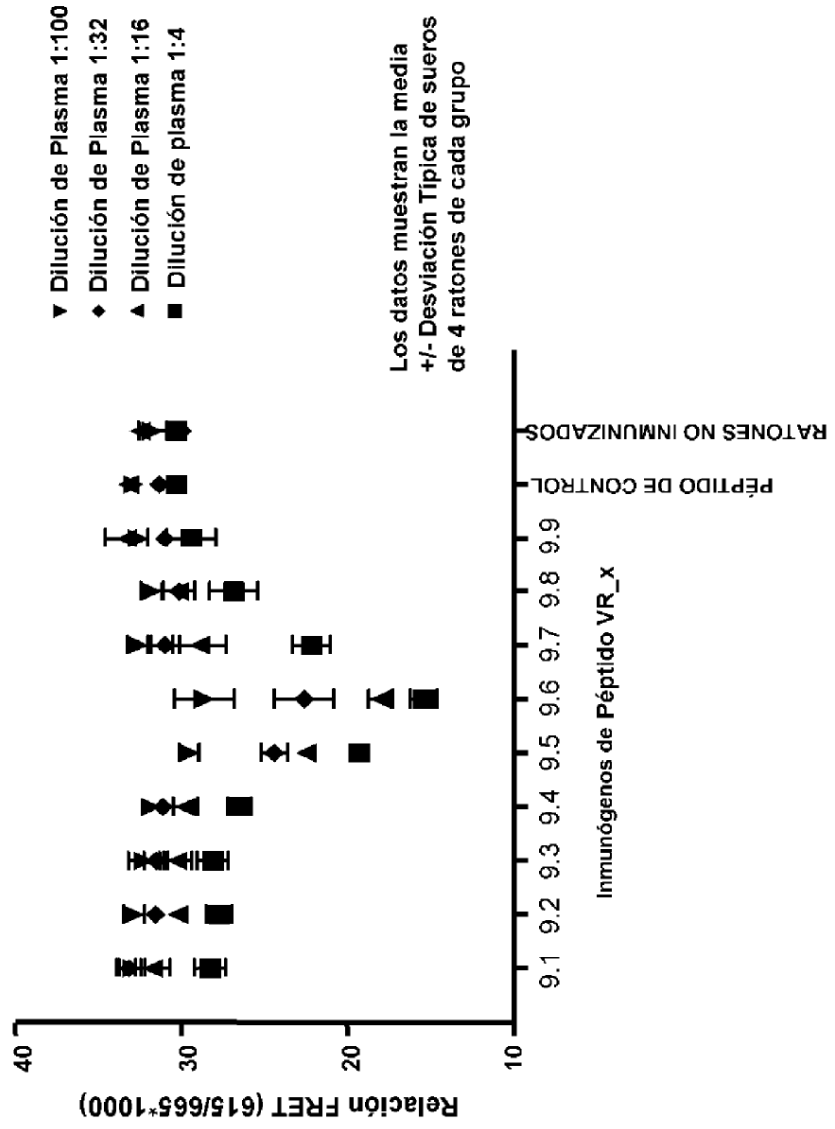


Figura 6

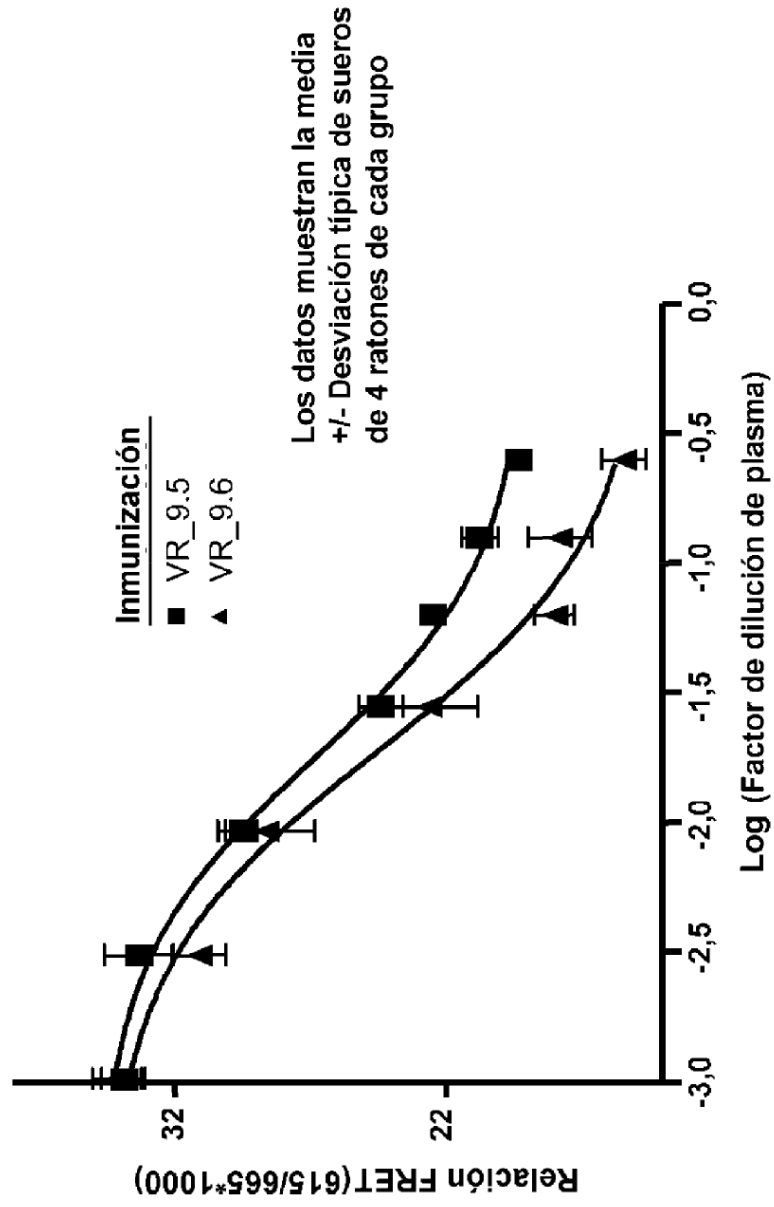
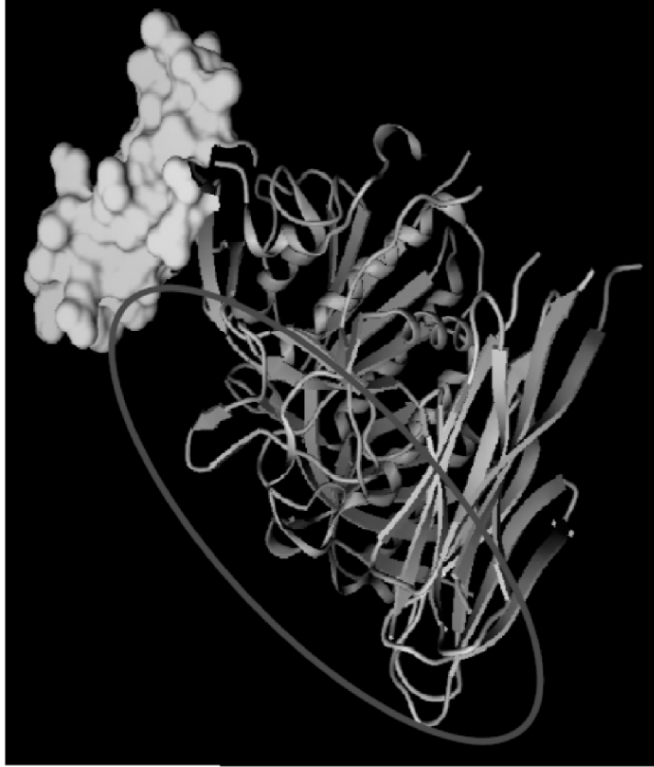
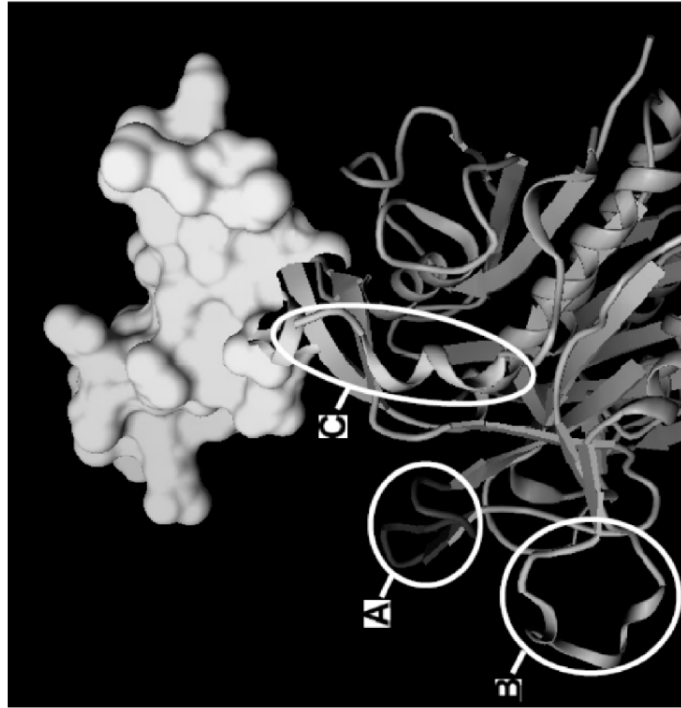


Figura 7



Complejo de PCSK9 (cintas) y EGF-A (relleno de espacio). Las posibles regiones de PCSK9 que pueden interactuar con dominios de LDLR distintos de EGF-A están indicadas por la elipse.

Figura 8



Se presenta el complejo de PCK9 (cintas) y EGF-A (relleno de espacio) con los aminoácidos correspondientes a los péptidos VR\_13/14 (A) y VR\_15/16 (B) y VR\_9.5 (C).

Figura 9

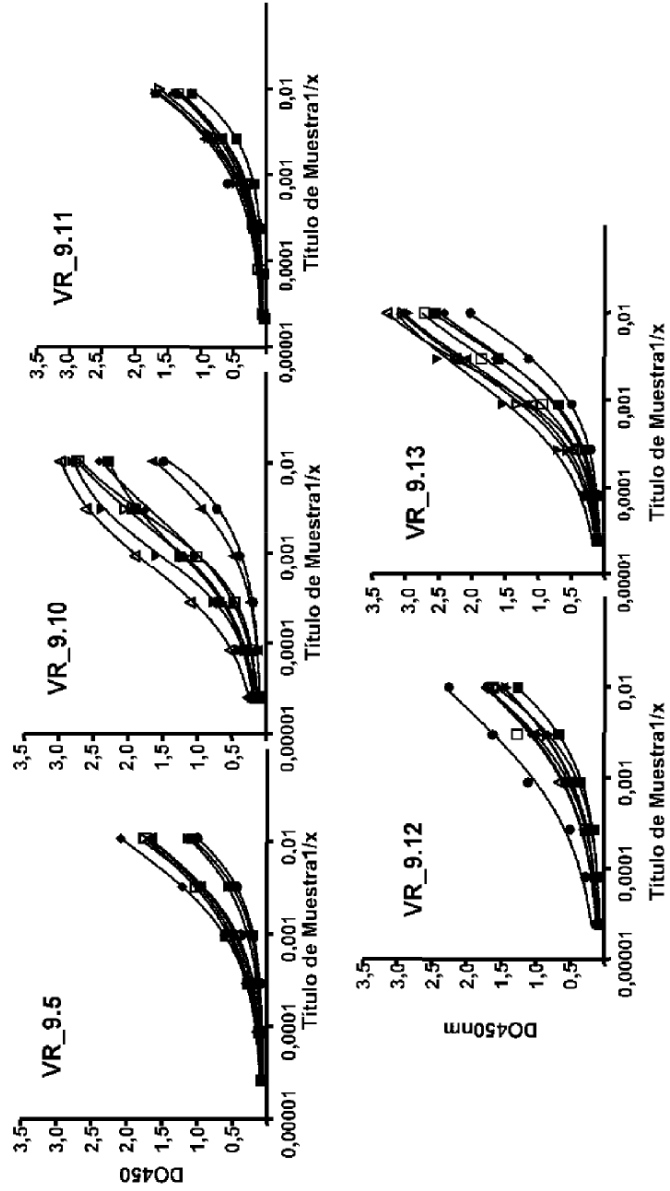


Figura 10

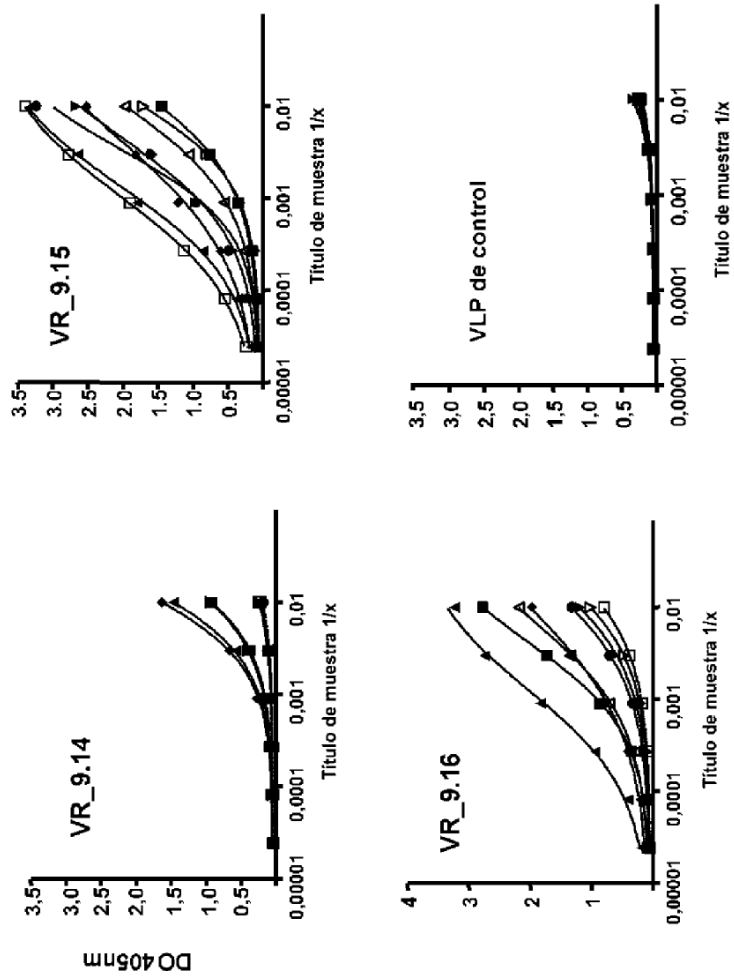




Figura 11

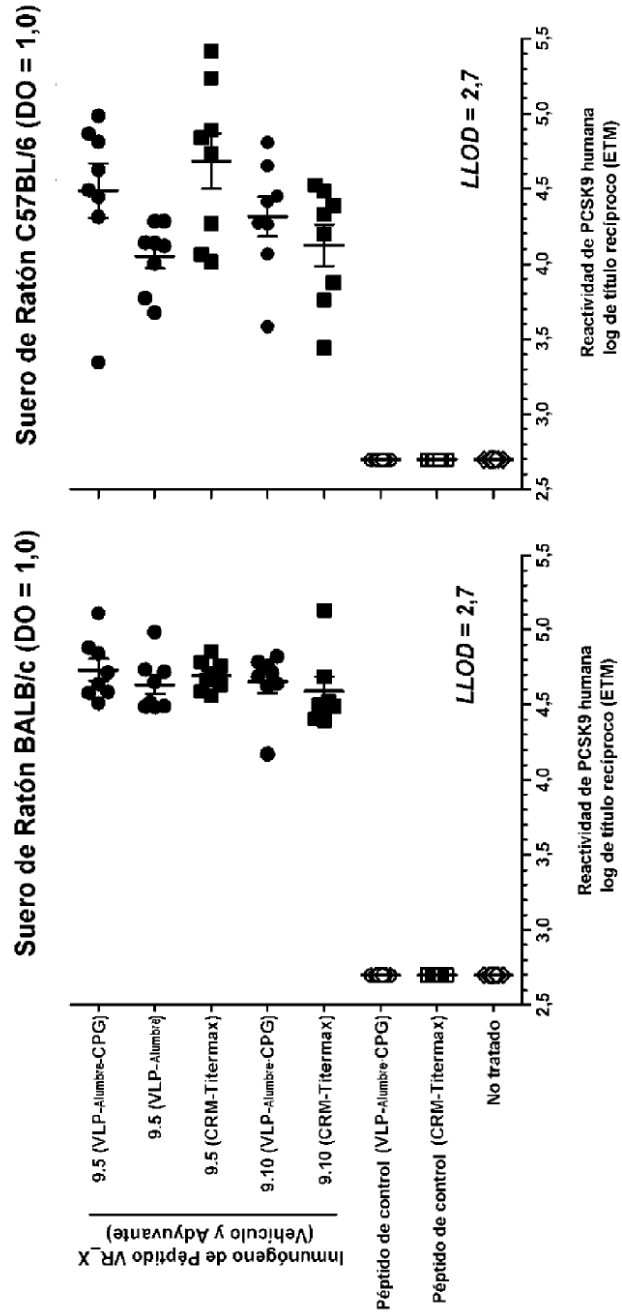


Figura 12

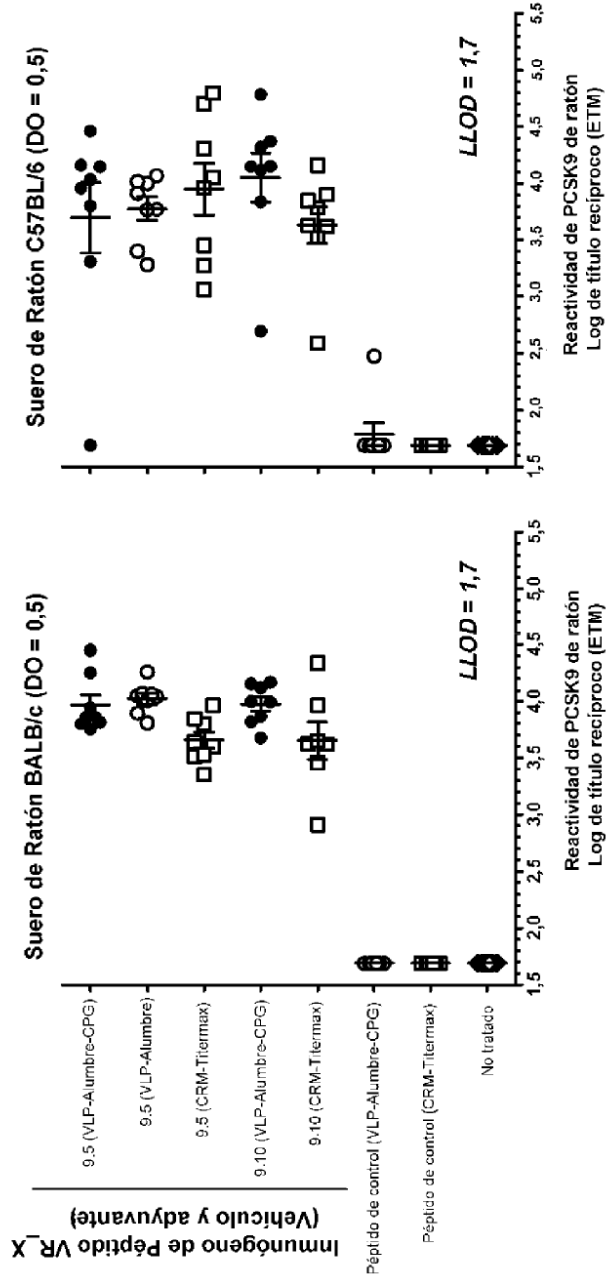


Figura 13

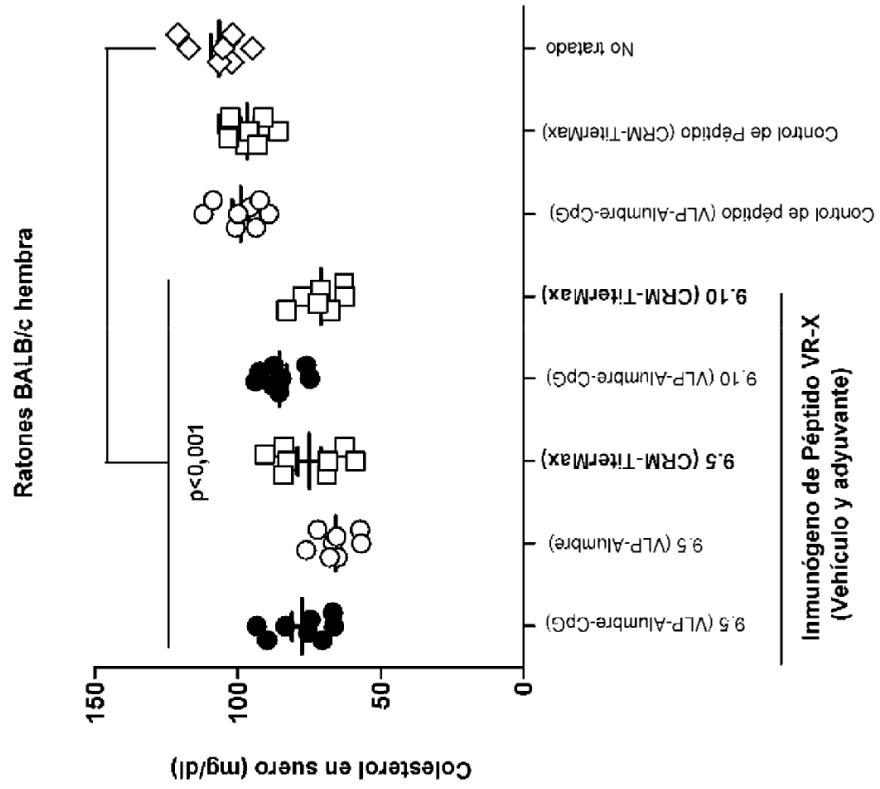


Figura 14

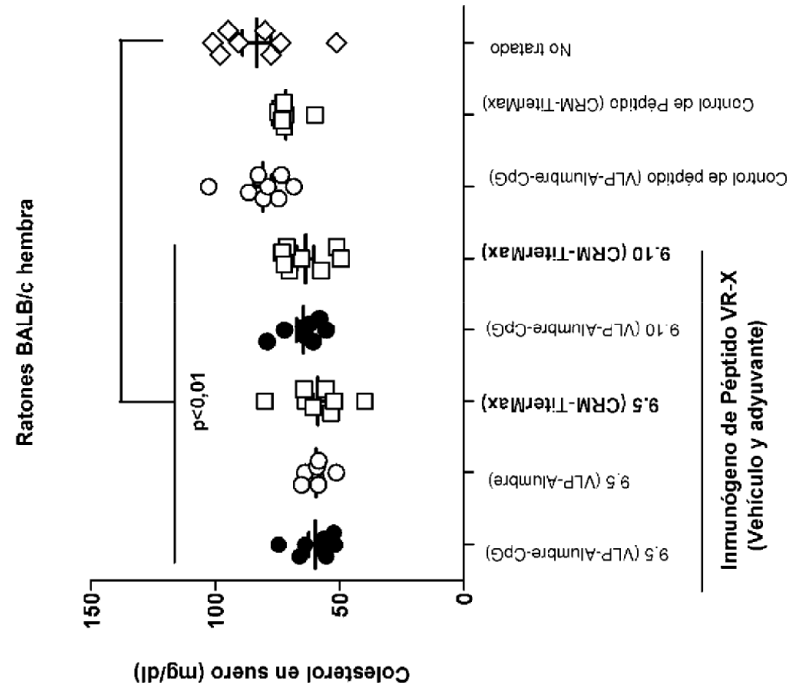


Figura 15

Respuestas Humorales Anti-PCSK9 humana  
Sueros de ratón BALB/c (DO=1,0)

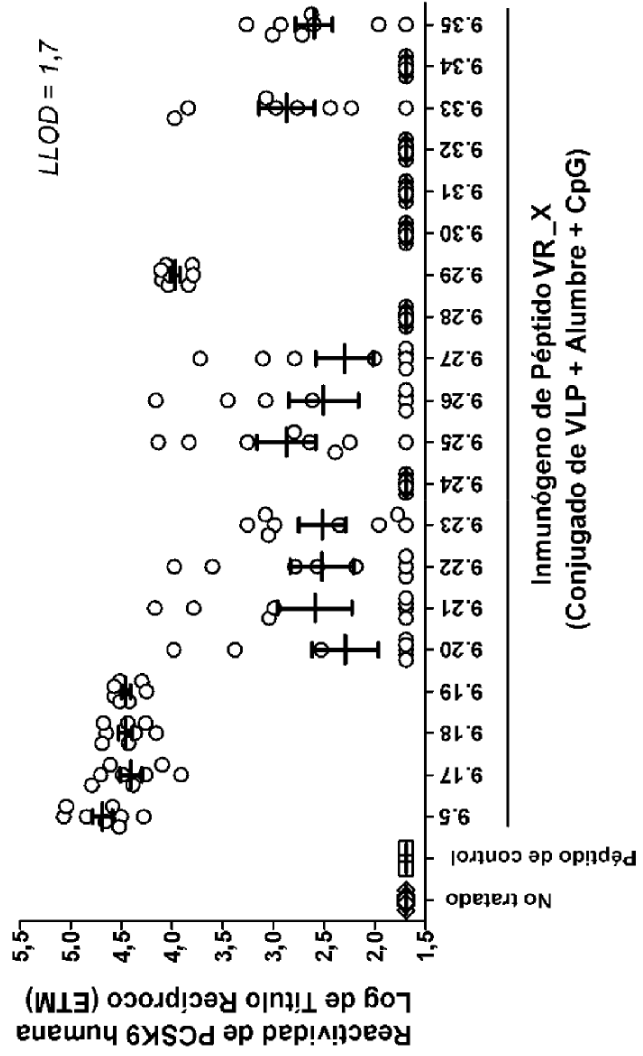


Figura 16  
Respuestas Humorales Anti-PCSK9 de ratón  
Sueros de ratón BALB/c (DO=0,5)

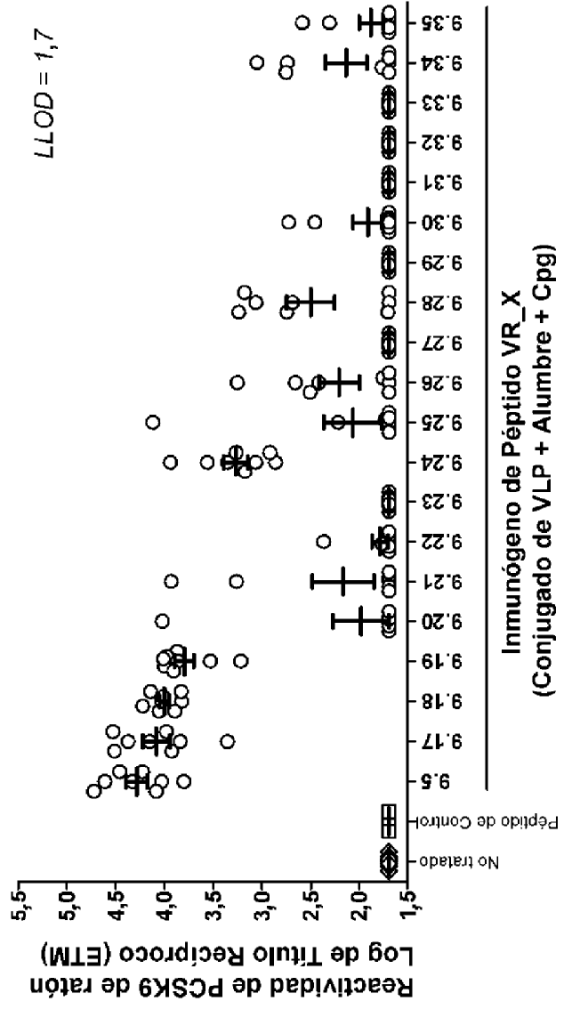


Figura 17

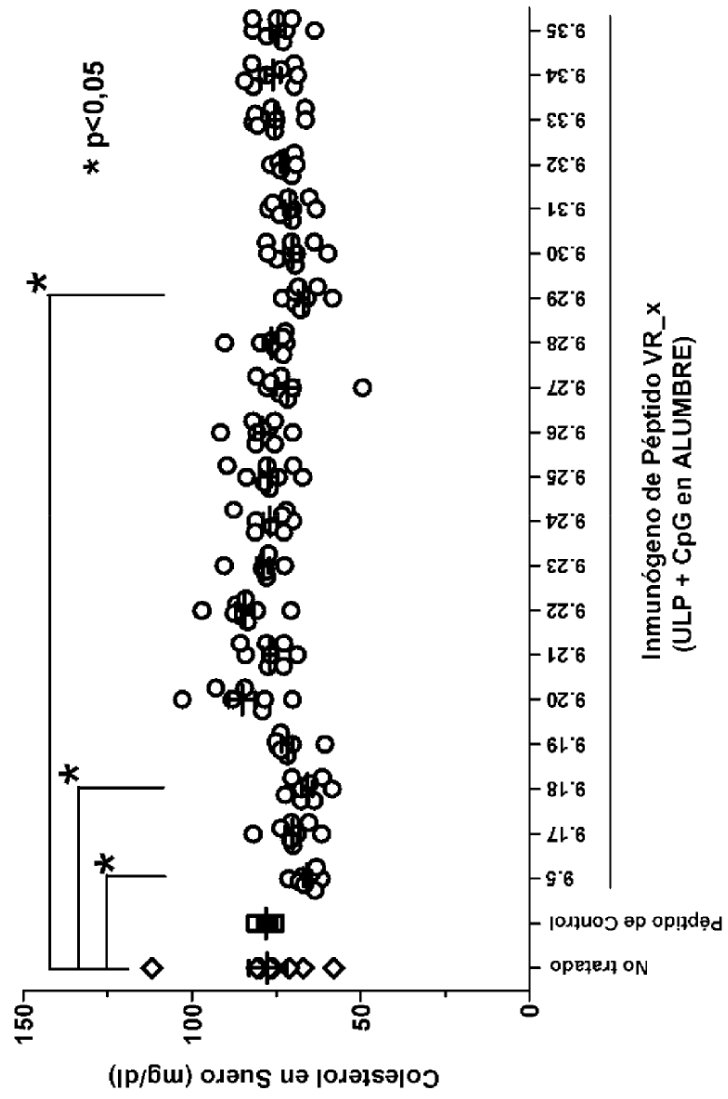
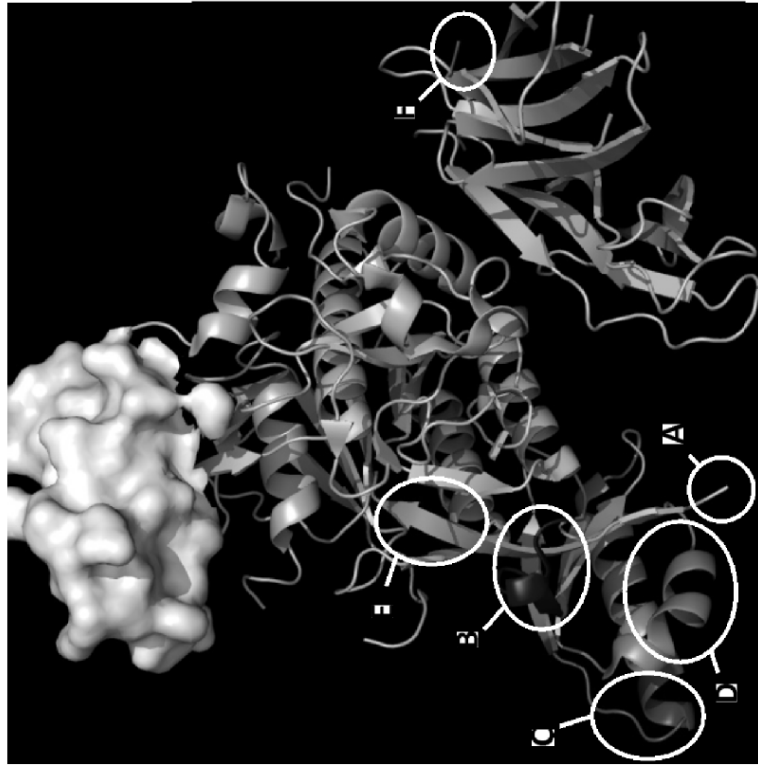


Figura 18



Se presenta el complejo de PCSK9 (cintas) y EGF-A (relleno de espacio) con los péptidos correspondientes a los aminoácidos VR\_9.25 / VR\_9.27 (A), VR\_9.29 (B), VR\_9.31 (C), VR\_9.33 (D), VR\_9.35 (E), y VR\_9.23 (F)

\* VR\_9.25 y VR\_9.27 están en una región N-terminal sin resolver de PCSK9; el resto destacado es el más próximo en secuencia (aa Thr61).



Figura 19

