



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 307 496**

51 Int. Cl.:  
**C07K 14/16** (2006.01)  
**C07K 16/10** (2006.01)  
**A61K 39/21** (2006.01)  
**A61K 39/295** (2006.01)  
**G01N 33/569** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **00911492 .7**  
96 Fecha de presentación : **02.03.2000**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1159298**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **05.12.2001**

54 Título: **Composiciones de vacuna, antígenos y péptidos de VIH.**

30 Prioridad: **04.03.1999 NO 19991078**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**01.12.2008**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**01.12.2008**

73 Titular/es: **Bionor Immuno AS.**  
**P.O. Box 1893 Gulset**  
**3703 Skien, NO**

72 Inventor/es: **Sörensen, Birger**

74 Agente: **Buceta Facorro, Luis**

ES 2 307 496 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).

# ES 2 307 496 T3

## DESCRIPCIÓN

Composiciones de vacuna, antígenos y péptidos de VIH.

### 5 Sector de la técnica

La presente invención se refiere a una composición de vacuna que comprende péptidos novedosos a base de regiones conservadas de gag P24 de VIH.

### 10 Estado de la técnica

Existe una necesidad urgente de controlar la epidemia global de la infección por VIH y el desarrollo de una vacuna contra el VIH es uno de los objetivos principales en la investigación del SIDA. En general, las vacunas deben activar las células presentadoras de antígenos, superar la restricción genética en las respuestas de células T y generar células de memoria T y B. La variabilidad de la población viral representa una dificultad adicional en la obtención de una vacuna eficaz contra el VIH. Hasta la fecha no se ha informado de ningún gran avance en los intentos que se están llevando a cabo para desarrollar una vacuna contra el SIDA. En la actualidad se acepta generalmente que una inducción de la inmunidad mediada por células y humoral específica de antígeno es crucial para un desarrollo de una vacuna terapéutica y profiláctica eficaz. Podrían requerirse los tres brazos del sistema inmunitario que incluyen anticuerpos neutralizantes, CD8+CTL y células T cooperadoras 1 (TH1) para la inmunidad protectora frente al VIH. Se sabe que los CTL pueden eliminar otras infecciones virales (Ada, Immunol. Cell Biol., 72:447-454, 1994) y que los CTL pueden lisar dianas infectadas inicialmente en la infección antes de que pueda producirse la progenie viral y liberarse mediante la lisis celular. Ada *et al.*, citado anteriormente. La atención se ha centrado en la selección de antígenos así como en el diseño y la evaluación de diferentes adyuvantes. Todos los antígenos usados en diferentes estudios *in vitro* e *in vivo* han provenido desde de proteínas brutas hasta diversos péptidos sintéticos, principalmente de gp160 y hasta cierto grado de p24. Se ha realizado un gran número de estudios sobre el bucle V3 de gp120. Se ha observado la inducción de respuestas tanto de células B como de células T, sin embargo, se ha informado, a partir de un estudio *in vitro*, de que un péptido de la región conservada de gp41 ha indicado un aumento de la infección (Bell S.J., *et al.*, Clin. Exp. Immunol., 87 (1): 37-45, (enero de 1992).

Las secuencias del VIH que se producen de manera natural en candidatos de vacuna no pueden estimular una respuesta inmunitaria estable debido a la capacidad inherente a los virus para ocultarse cambiando el aspecto de los epítotos presentados sobre la superficie celular de células infectadas. El sistema inmunitario se engaña creyendo que una secuencia de aminoácidos particular es relevante cuando, de hecho, los aminoácidos de importancia están ocultos.

Un estudio reciente de títulos de anticuerpo frente a la proteína gag p24 ha mostrado que la progresión lenta hacia el desarrollo del SIDA está asociada con títulos altos, mientras que la progresión rápida hacia el desarrollo del SIDA está asociada con títulos bajos. Se muestra que personas con título bajo de anticuerpo frente a p24 desarrollan el SIDA de manera significativamente más rápida que personas con títulos altos de p24 (Zwart G., *et al.* Virology, 201, páginas 285-93, junio de 1991), lo que indica que p24 puede desempeñar un papel clave para controlar el desarrollo del SIDA.

Se describen nuevos péptidos de p24 del VIH en el documento WO91/13360, en el que se usan los péptidos en un método de discriminación entre verdadero y falso de una muestra de suero positiva para VIH diagnosticada.

Johnson R.P., *et al.*, The Journal of Immunology, Vol. 147, páginas 1512-1521, N° 5, 1 de septiembre de 1991, describe un análisis de la buena especificidad de respuestas de CTL específicas de gag en tres individuos seropositivos para VIH-1, se encontró que las respuestas de CTL específicas de gag estaban mediadas por linfocitos CD3+CD8+ que están restringidos por HLA de clase I.

El documento EP-A-O 356 007 da a conocer determinantes antigénicos, en particular se refiere a secuencias polipeptídicas sintéticas que se refieren a proteínas presentes en el VIH-1 y que pueden usarse como base para una posible vacuna contra el SIDA.

Rosenberg E.S. *et al.*, Science, Vol. 278, 21 de noviembre de 1997, páginas 1447-1450 describe que los linfocitos de células T cooperadoras CD4+ específicos de virus son críticos para el mantenimiento de la inmunidad eficaz en varias infecciones virales crónicas, pero, de manera característica no pueden detectarse en la infección crónica por el virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (VIH-1). Las respuestas proliferativas específicas de VIH-1 frente a p24 se relacionaron inversamente con la carga viral. Se concluyó que era posible que las células cooperadoras específicas del VIH-1 fueran importantes en intervenciones inmunoterápicas y el desarrollo de vacunas.

Los documentos EP 0 230 222, EP 0 270 114, DE 37 11 016 y GB 2 188 639 todos a nombre de F. Hoffmann-La Roche & Co. Aktiengesellschaft se refieren a la expresión recombinante y a la purificación de una proteína del gen Gag/Env del VLTH-III o proteínas de fusión. Las proteínas que consisten en secuencias nativas pueden purificarse hasta la homogeneidad y usarse como base para pruebas diagnósticas para la detección de anticuerpos frente a virus asociados con el SIDA. La proteína gag/env puede formularse también para su uso como una vacuna para la protección contra el SIDA a través de inmunización profiláctica.

## ES 2 307 496 T3

Desde un punto de vista diagnóstico y terapéutico, los problemas principales del uso de p24 como parte de un ensayo o tratamiento, están asociados con el alto número de epítopos en p24, lo que estimula la producción de un gran número de anticuerpos con mala especificidad, lo que a través de una dosis de refuerzo repetida de posibles secuencias mutadas, puede crear autoanticuerpos (Autoantibodies to the alfa/beta T-cell receptors in HIV infection; dysregulation and mimicry. Lake D.F., *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, (23): 10849-53, Nov. 8 1994). Además, se informa de que el título de anticuerpos frente a p24 no alcanza los mismos niveles altos que para las proteínas de la envuelta (gp120 y gp41). Normalmente, los anticuerpos frente a p24 se desarrollan en la fase más temprana de la infección, pero el título se estabiliza bastante rápidamente tras el periodo de infección inicial. Más tarde, el título de p24 va disminuyendo gradualmente mientras que ocurre lo contrario con gp160. Estos hallazgos pueden observarse también en relación con los informes recientes que afirman que la actividad de células T citotóxicas está antagonizada por variantes de gag de VIH-1 que se producen de manera natural (Klenerman P., *et al.*, Nature, 2: 369 (6479), página 355, 2 de junio de 1994). Esto puede ser una de las razones de porqué se observa una rápida estabilización del título de p24 y de porqué más tarde éste comienza a disminuir.

Basándose en los datos de los antecedentes anteriores, se decidió investigar la posibilidad de diseñar péptidos sintéticos novedosos que pudieran imitar al epítipo de p24 sin antagonizar la actividad de células T citotóxicas, con el fin de satisfacer la necesidad de una vacuna profiláctica y terapéutica eficaz.

El trabajo inicial se basó en un epítipo que se había publicado por Korber B., *et al.*, Human Retroviruses and AIDS 1997 Fds. Theoretical Biology and Biophysics Group, Los Alamos National Laboratory. Los Alamos, NM. La secuencia de aminoácidos de este epítipo (203-222) era:

```

25      K A L G P G A T L E E M M T A C Q G V G
      R R M R T K   S I K D   L S S S   R   R
          G     V R             V
30          S     A A
              S E
              Q Q

```

Los códigos de una letra así como los de tres letras que definen los aminoácidos en las secuencias dadas a lo largo de esta memoria descriptiva son según las normas internacionales y se facilitan en libros de texto, por ejemplo Lehninger A.L., "Principles of Biochemistry", Worth Publishers inc., Nueva York, 1982. Los aminoácidos facilitados debajo de la secuencia de cabeza representan la variación natural de la secuencia. Se realizó un estudio inicial de una secuencia que contenía este epítipo modificado sobre la secuencia:

```

45      N H 2      A N P D C K Q I L K S L G P G A T L E E X X T A C Q G V G -
                      └────────────────────────────────────────┘

```

en la que X indica ácido 2-aminohexanoico y los residuos de cisteína están en un estado oxidado, es decir, están formando un puente disulfuro intracadena. Los resultados (no publicados) de los estudios que usaron este péptido como parte de un kit de diagnóstico mostraron que la especificidad se hizo del 87% (n = 279) en un panel preseleccionado de sueros africanos. La sensibilidad fue sorprendentemente del 100% en un panel de sueros positivos para VIH-1 incluyendo sueros del subtipo O del VIH-1, que es bastante diferente de los otros subtipos.

Con el fin de mejorar la especificidad, es decir, definir los aminoácidos que contribuyen a una respuesta de anticuerpos no de reacción cruzada, se aplicó un estudio similar a un péptido modificado adicional y significativamente más corto:

```

60      L I W G A T C Q E H X T A C Q G V G - N H 2
                      └──────────────────┘

```

en la que X tiene el significado mencionado anteriormente y los residuos de cisteína están formando un puente de disulfuro intracadena.

## ES 2 307 496 T3

Los resultados de este estudio mostraron que la especificidad del ensayo aumentaba hasta el 96% y (n = 293), lo que es similar a la especificidad obtenida en el ensayo sin el uso del péptido de p24. Con una especificidad del 87% para el ensayo en el que se incluía el primer péptido, sería posible que el péptido indujera una respuesta inmunitaria frente a más de un epítipo, ya que se reconocía por anticuerpos no específicos, si se usaba como candidato de vacune. Esto último, sin embargo, muestra que la secuencia peptídica está tomando una respuesta inmunitaria que es única para el VIH-1. Por consiguiente, si una secuencia basada en esto se usa como antígeno en un candidato de vacuna, sería más posible administrar una dosis de refuerzo de una respuesta inmunitaria única frente al VIH-1.

Para aumentar adicionalmente el número de epítopos de células T y reducir la probabilidad de desarrollo de mutantes de escape, se basaron tres secuencias peptídicas adicionales en las tres secuencias siguientes de los residuos 261-284, 253-271 y 166-186, respectivamente publicadas en Human Retroviruses and AIDS 1997; A Compilation and Analysis of Nucleic Acid and Amino Acid Sequences. Eds. Theoretical Biology and Biophysics Group, Los Alamos National Laboratory, Los Alamos:

15

R W I I L G L N K I V R M Y S P T S I L D

20

K G V V M M K C V G E

D M V V Q I G

25

S

A

30

N N P P I P V G E I Y K R W I I L G L

S Q A V K D M L R K G M V M

35

G G S N K V D V V

H G T

40

A

P

45

P E V I P M F S A L S E G A T P Q D L N T

R I T T T L T E A D I S Y N I Y M

50

L N A L V H V I

M L A

55

V

Se han sintetizado varios péptidos modificados con el fin de determinar secuencias únicas que sean tanto específicas como sensibles hacia el VIH-1.

### 60 Descripción de la invención

La composición de vacuna según la invención comprende péptidos que se originan a partir de las cuatro zonas conservadas diferentes de la proteína p24 del núcleo del VIH-1 que se describen anteriormente, que tienen las propiedades de mantener la singularidad (sensibilidad y especificidad) del epítipo de VIH-1. Además, los nuevos péptidos no presentan ningún efecto antagonista de linfocitos T citotóxicos (CTL) reconocido y deben tener al menos un posible epítipo de CTL.

## ES 2 307 496 T3

La invención proporciona una composición de vacuna, caracterizada porque comprende los péptidos de la SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 11 y SEQ ID NO: 18, en la que los extremos terminales de las secuencias pueden ser grupos amino o carboxilo libres, amidas, acetilos o sales de los mismos, junto con un diluyente farmacéuticamente aceptable y opcionalmente un adyuvante, portador y/o vehículo y opcionalmente compuesto(s) inmunoestimulador(es) adicional(es).

La antigenicidad puede adaptarse a través del ajuste de la razón o la concentración de diferentes péptidos o el tamaño de los péptidos mediante, por ejemplo, dimerización o polimerización y/o inmovilización a una fase sólida. Los antígenos pueden estar unidos mediante puentes de tipo alquileo  $C_1-C_8$  posiblemente intercalado con uno o más heteroátomos tales como O, S o N o preferiblemente sin estar unidos.

Todos los aminoácidos en los péptidos de la invención pueden estar tanto en forma D como L, aunque se prefiere la forma L que se produce de manera natural.

Los extremos C y N terminales de las secuencias peptídicas podrían desviarse de las secuencias naturales mediante la modificación del grupo COOH y/o el grupo  $NH_2$  terminal, por ejemplo pueden estar acilados, acetilados, amidados o modificados para proporcionar un sitio de unión para un portador u otra molécula.

El antígeno de polipéptido según la invención está o bien en una forma libre o bien en una forma unida a portador. El portador o la fase sólida al que el péptido está opcionalmente unido pueden seleccionarse de una amplia variedad de portadores conocidos. Debe seleccionarse con respecto al uso pretendido del polipéptido inmovilizado como un antígeno de diagnóstico o como un componente de inmunización en una vacuna.

Según una realización adicional de la presente invención, los antígenos pueden formar parte de una vacuna posiblemente combinados con portadores, adyuvantes o combinados con otros elementos de inmunoestimulación tales como el virus de la viruela del canario que porta el gen *env*. Ejemplos de portadores y/o adyuvantes para fines de vacuna son otras proteínas tales como albúmina de suero bovino o humano y hemocianina de lapa californiana. Los materiales inmunoestimuladores pueden dividirse en tres grupos; adyuvantes, portadores para antígenos y vehículos. Los ejemplos de adyuvantes incluyen hidróxido de aluminio, sales de aluminio, saponina, di y tripéptidos de muramilo, monofosforil lípido A, *B. pertussis* y diversas citocinas incluyendo las citocinas tipo Th1, IL-12 y IL-1. Pueden usarse varias toxinas de proteína para portar proteínas pasajeras a través de las membranas celulares hacia el citosol, lo que es útil en el desarrollo de vacunas de CTL. Los portadores incluyen toxoides bacterianos tales como toxinas del cólera y tetánicas inactivadas, toxinas bacterianas destoxificadas genéticamente tales como enterotoxina lábil al calor de *E. coli*, ácidos grasos, vectores vivos tales como proteínas híbridas y quimeras de la polio que forman materiales particulados, por ejemplo partículas de HBcAg y partículas de TY híbridas de retrotransposón de levadura. Los vehículos que con frecuencia son componentes que aparecen en las vacunas modernas están constituidos por emulsión de aceite mineral, adyuvante completo e incompleto de Freund, emulsiones de aceite vegetal, tensioactivos de copolímero de bloque no iónicos, escualeno o escualano, liposomas y microesferas biodegradables. Dos adyuvantes novedosos que presentan un potencial significativo para el desarrollo de nuevas vacunas incluyen una microemulsión de aceite en agua (MF59) y micropartículas poliméricas. Puede usarse cualquier sustancia que pueda potenciar la inmunogenicidad del antígeno, y se facilitan varias alternativas adicionales de portadores o adyuvantes en la Farmacopea Europea o estadounidense.

Una formulación adecuada del antígeno para usos inmunoestimuladores puede comprender también interferones tales como el  $INF-\gamma$ , quimiocinas antivirales o factores de crecimiento hematopoyéticos tales como el factor de crecimiento de granulocitos-macrófagos.

Otro enfoque con el fin de potenciar la estimulación y la absorción en, por ejemplo, el intestino, es administrar los péptidos de la invención, con péptidos pequeños tales como di, tri o tetrapéptidos. Estos péptidos pueden administrarse además de o en combinación con los péptidos de la invención. Preferiblemente, los péptidos se administran junto con el tripéptido YGG, que consiste en aminoácidos en las formas D o L, preferiblemente en la forma D.

Enfoques recientes para la administración no parenteral de vacunas, por ejemplo a través de la mucosa incluyen; tecnología de fusión génica para crear derivados no tóxicos de adyuvantes de la mucosa, antígenos inactivados genéticamente con una delección en un gen esencial, coexpresión de un antígeno y una citocina específica que es importante en la modulación y el control de una respuesta inmunitaria de la mucosa, y el propio material genético que permitiría la captación de ADN o ARN y su expresión endógena en las células huésped.

Un enfoque para desarrollar respuestas duraderas en el que se requiere inmunidad mediada por células, es vacunar con ADN de plásmido que codifica para uno o más antígeno(s) específicos.

Con el fin de proteger contra la infección por VIH, las vacunas deben inducir respuestas inmunitarias tanto sistémicas como de la mucosa y podrían administrarse mediante cualquier vía conveniente, por vía parenteral o por vía no parenteral, tal como por vía subcutánea, por vía intracutánea, por vía intravenosa, por vía intramuscular, por vía oral, por vía mucosa o por vía intranasal por ejemplo.

## ES 2 307 496 T3

La composición de vacuna contiene los antígenos;

RALGPAATLQTPWTASLGVG-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 3)  
5 RWLLGLNPLVGGGRLYSPTSILG-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 6)  
RAIPIAGTLLSGGGRAIYKRTAILG-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 11)

y

10 RFIIPNIFTALSGGRRALLYGATPYAIG-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 18).

Una de las secuencias contiene un epítipo de célula B y activará el sistema inmunitario humoral, mientras que las otras secuencias contribuyen con los epítopos de CTL y los cambios de aminoácidos implementados dentro de la estructura del epítipo de CTL se diseñan para conseguir un aumento de la unión. Se han realizado otros cambios de aminoácidos con el fin de facilitar la síntesis del péptido y/o aumentar la solubilidad del péptido.

### *Descripción de la preparación de los péptidos*

20 Los péptidos de la invención pueden producirse mediante cualquier método conocido de producción de una secuencia de aminoácidos lineal, tales como las técnicas de ADN recombinante. Una secuencia de ácido nucleico que codifica para un péptido de la invención o un multímero de dichos péptidos, se introduce en un vector de expresión. Vectores de expresión adecuados son por ejemplo plásmidos, cósmidos, virus y YAC (cromosomas artificiales de levadura) que comprenden las regiones de control necesarias para la replicación y la expresión. El vector de expresión puede estimularse para la expresión en una célula huésped. Células huésped adecuadas son por ejemplo bacterias, células de levadura y células de mamífero. Tales técnicas se conocen bien en la técnica y se describen por ejemplo por Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 1969. Otras técnicas bien conocidas son la degradación o la síntesis mediante el acoplamiento de un residuo de aminoácido al siguiente en fase líquida o preferiblemente sobre una fase sólida (resina) por ejemplo mediante la denominada síntesis de Merrifield. Véase por ejemplo Barany and Merrifield en The Peptides, Analysis, Synthesis, Biology, Vol. 2, E. Gross y Meinhofer, Ed. (Acad. Press, N.Y., 1980). Kneib-Coronier y Mullen Int. J. Peptide Protein Res., 30 páginas 705-739 (1987) y Fields y Noble Int. J. Peptide Protein Res., 35, páginas 161-214 (1990).

35 En caso de desearse un péptido unido o cíclico, la secuencia de aminoácidos se somete a una etapa de oxidación química con el fin de ciclar o unir los dos residuos de cisteína con una o entre dos secuencias peptídicas, cuando se sintetizan las secuencias de aminoácidos lineales apropiadas, véase Akaji *et al.*, Tetrahedron Letter, 33, 8, páginas 1073-1.076, 1992.

### *Descripción general de síntesis*

45 Se sintetizaron todos los derivados peptídicos preparados en los ejemplos facilitados a continuación en un sintetizador de péptidos Milligen 9050 usando un programa convencional. La resina usada fue Tentacel P RAM con una carga teórica de 0,20 meq/g (RAPP POLYMERE GmbH, Tübingen). Se secó el producto final de la síntesis a vacío durante la noche. Entonces se escindió el péptido de la resina mediante tratamiento con ácido trifluoroacético al 90% en presencia de etanoditiol (5%) y agua (5%) como eliminadores (1,5 horas a TA). Entonces se filtró la resina y se lavó sobre filtro con ácido trifluoroacético (100%) adicional (2 x 20 ml). Se evaporaron los filtrados combinados a vacío (baño de agua a TA) y se trituró el residuo con etil éter (200 ml) y se separó por filtración el producto precipitado. Se disolvió el sólido inmediatamente sobre filtro con ácido acético glacial (100 ml) y se añadió a 1,5 l de ácido acético al 20% en metanol y se trató con disolución 0,1 M de yodo en metanol hasta que permaneció un ligero color marrón. Entonces se añadió Dowex 1 x 8 de intercambio iónico en forma de acetato (15 g) (Bio-Rad, Richmond, CA) y se filtró la mezcla. Se evaporó el filtrado y se liofilizó el residuo en ácido acético. Entonces se purificó el producto mediante cromatografía líquida de fase inversa en una columna cargada con Kromasil® 100-5 C8 (EKA Nobel, Surte, Suecia) en un sistema adecuado que contenía acetonitrilo en disolución acuosa de ácido trifluoroacético al 0,1%. Se analizaron las muestras recogidas de la columna mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) analítica (Beckman System Gold, EE.UU.) equipada con una columna Kromasil® 100-5 C8 (EKA Nobel, Surte, Suecia). Se reunieron las fracciones que contenían la sustancia pura, se evaporó el disolvente y se liofilizó el producto en ácido acético. Se realizó el análisis de HPLC final sobre el producto final, y se confirmó la estructura del péptido mediante análisis de aminoácidos y espectrometría de masas (LDI-EM).

Todos Los aminoácidos usados durante la síntesis fueron aminoácidos L y se protegieron con un grupo fluorenil-metoxicarbonilo en la función amino  $\alpha$ . Se protegieron las cadenas laterales tal como sigue:

65 Cys(Trt), Gln(Trt), Glu(OtBu), Thr(tBu).

## ES 2 307 496 T3

Las abreviaturas, entre paréntesis, son:

Trt = trifenilmetilo

5 t-Bu = terc-butilo

OtBu = éster terc-butílico

Los derivados de aminoácido se suministraron por Bachem AG, Suiza.

10

### Ejemplo 1

#### *Preparación de RALGPAATLQTPWTASLGVG (SEQ ID NO: 3)*

15 Se sintetizó el péptido en forma de amida, a partir de los materiales de partida correspondientes según la descripción general de síntesis. Se determinó la pureza mediante análisis de HPLC y se confirmó la estructura mediante análisis de aminoácidos y espectrometría de masas (LDI-EM).

Pureza (HPLC): más del 95%

20

Peso molecular (base libre): 1966

Fórmula molecular:  $C_{88}H_{144}O_{25}N_{26}$

### 25 Ejemplo 2

#### *Preparación de RWLLGLNPLVGGGRLYSPTSILG (SEQ ID NO: 6)*

30 Se sintetizó el péptido en forma de amida, a partir de los materiales de partida correspondientes según La descripción general de síntesis. Se determinó la pureza mediante análisis de HPLC y se confirmó la estructura mediante análisis de aminoácidos y espectrometría de masas (LDI-EM).

Pureza (HPLC): más del 95%

35

Peso molecular (base libre): 2552

Fórmula molecular:  $C_{119}H_{195}O_{29}N_{33}$

### Ejemplo 3

40

#### *Preparación de RAIPIAGTLLSGGGRAIYKRWAILG (SEQ ID NO: 11)*

45 Se sintetizó el péptido en forma de amida, a partir de los materiales de partida correspondientes según la descripción general de síntesis. Se determinó la pureza mediante análisis de HPLC y se confirmó la estructura mediante análisis de aminoácidos y espectrometría de masas (LDT-EM).

Pureza (HPLC): más del 95%

Peso molecular. (base libre): 2707

50

Fórmula molecular:  $C_{125}H_{208}O_{29}N_{38}$

### Ejemplo 4

#### *Preparación de RFIIPNIFTALSGGRRALLYGATPYAIG (SEQ ID NO: 18)*

60 Se sintetizó el péptido en forma de amida, a partir de los materiales de partida correspondientes según la descripción general de síntesis. NI en la secuencia es norleucina. Se determinó la pureza mediante análisis de HPLC y se confirmó la estructura mediante análisis de aminoácidos y espectrometría de masas (LDI-EM).

Pureza (HPLC): más del 95%

Peso molecular (base libre): 2894

65

Fórmula molecular:  $C_{137}H_{217}O_{32}N_{37}$

## Ejemplo 5

Se preparó una vacuna que comprendía los péptidos de la SEQ ID NO: 3, 6, 11 y 18. Se disolvieron los péptidos liofilizados en agua estéril a una concentración final de 4 mg/ml. La concentración de sal final fue del 0,9%. También se preparó una preparación de un factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), según las instrucciones de uso del fabricante, hasta una concentración final de 0,3 mg/ml. Se administraron las dos disoluciones por vía intracutánea. Una dosis de inyección típica es de 100  $\mu$ l.

## Ejemplo 6

Se mezcla una suspensión o disolución de antígeno con partes iguales de adyuvante de Freund de Behring, completo o incompleto, y entonces se emulsiona finamente aspirándose en, y presionándose vigorosamente hacia fuera de, una jeringuilla de inyección o con un homogeneizador. La emulsión debe permanecer estable durante al menos 30 minutos. Las emulsiones de antígeno-adyuvante se inyectan de la mejor manera por vía subcutánea como sustancias de liberación prolongada.

## Ejemplo 7

*Datos de toxicidad*

Se realizaron estudios de toxicidad en ratones y ratas con la composición de péptido de la vacuna del ejemplo 5. Se seleccionó el ratón para el estudio para proporcionar datos comparativos a partir de una segunda especie de roedor usada comúnmente. La sustancia de prueba era una mezcla de cuatro péptidos suministrada como un vial que contenía material liofilizado para su reconstitución con solución salina fisiológica, y los niveles de dosis se expresaron en cuanto a la carga peptídica total. Los péptidos individuales estaban presentes en una razón 1:1:1:1 dando niveles de dosis de cada péptido de 0,0075 mg/kg de peso corporal, 0,075 mg/kg de peso corporal y 0,75 mg/kg de peso corporal, que son hasta 500 veces la dosis humana pretendida. Se dividieron los animales de prueba en cuatro grupos de 10 animales cada uno (cinco machos y cinco hembras); un grupo control con solución salina y grupos para dosis bajas, intermedias y altas. Se administró la composición de prueba una vez, mediante infusión intravenosa en una vena de la cola a una velocidad de dosis de 3 ml/minuto. Se sacrificaron los animales en los días 15 y 16 mediante inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico.

Los resultados de estos estudios indicaron que los niveles de dosis administrados a los ratones y las ratas no provocaban reacciones adversos y que el nivel de no efecto era con exceso de 3 mg/kg.

Los ejemplos anteriores están concebidos solamente como ilustrativos de la invención.

Los polipéptidos dados a conocer en el presente documento pueden usarse en una combinación de al menos un péptido seleccionado de cada grupo de secuencias, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 11 y SEQ ID NO: 18 para formar antígenos y el principio activo de una vacuna profiláctica y terapéutica destinada a proporcionar protección frente al virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (VIH-1). La vacuna puede incluir compuestos que tienen efectos beneficiosos en la protección o estimulación del sistema inmunitario del huésped (ser humano o animal vertebrado) por ejemplo, interleucinas, interferones, factores de crecimiento de granulocitos-macrófagos, factores de crecimiento hematopoyéticos o similares. Preferiblemente, la composición de vacuna contiene además un adyuvante o vehículo, más preferiblemente el adyuvante o vehículo es monofosforil lípido A (MPL<sup>®</sup>) posiblemente con alumbre, adyuvante de Freund (completo o incompleto) o hidróxido de aluminio. La cantidad óptima de adyuvante/vehículo dependerá del/de los tipo(s) que se elija(n). La formulación de vacuna o de péptido puede liofilizarse antes del almacenamiento. La vacuna puede almacenarse preferiblemente a baja temperatura, en ampollas que contienen una o más unidades de dosificación, listas para usar. Una unidad de dosificación típica del péptido según la invención está dentro del intervalo de concentración: 1  $\mu$ g-1 mg por kg de peso corporal, preferiblemente dentro de 2  $\mu$ g-0,15 mg por kg de peso corporal. Los expertos en la técnica apreciarán que una dosis adecuada dependerá del peso corporal del paciente, del tipo de enfermedad, de la gravedad del estado, de la vía de administración y de otros factores diversos. La vacuna podría administrarse hasta doce veces y a través de inyección, normalmente se administrará aproximadamente tres veces. En la preparación de una disolución para inyección, se disuelven los péptidos en disolución de cloruro de sodio estéril a una concentración final de 1 mg/ml por péptido y cloruro de sodio al 0,9%. Normalmente, un volumen de inyección es de 100  $\mu$ l a 200  $\mu$ l (2 x 100  $\mu$ l). El péptido se administra de manera conjunta preferiblemente con un adyuvante adecuado y/o un factor de crecimiento de granulocitos-macrófagos por ejemplo Leucomax<sup>®</sup> "Shering Plough". La administración adecuada puede ser intracutánea, subcutánea, intravenosa, oral, intramuscular, intranasal, mucosa o cualquier otra vía adecuada. Pueden requerirse administraciones de refuerzo con el fin de mantener la protección. Los expertos en la técnica entenderán que las composiciones de vacunas según la invención son útiles no sólo en la prevención de la infección, sino también en el tratamiento de la infección.

**Referencias citadas en la memoria**

Esta Lista de referencias citadas por el solicitante se dirige únicamente a ayudar al lector y no forma parte del documento de patente europea. Incluso si se ha procurado el mayor cuidado en su concepción, no se pueden excluir errores u omisiones y el OEB declina toda responsabilidad a este respecto.

## ES 2 307 496 T3

### Documentos de patente mencionados en la memoria

- WO 9113360 A (0005)
- EP 0270114 A (0009)
- 5 • EP 0356007 A (0007)
- DE 3711016 (0009)
- EP 0230222 A (0009)
- GB 2188639 A (0009)

### Literatura no relacionada con patentes citada en la memoria

- 10 • **ADA.** *Immunol. Cell Biol.*, 1994, vol. 72, 447-454 [0002]
- **BELL S.J. et al.** *Clin Exp Immunol.*, January 1992, vol. 87 (1), 37-45 [0002]
- 15 • **ZWART G. et al.** *Virology*, June 1994, vol. 201, 285-93 [0004]
- **JOHNSON R.P. et al.** *The Journal of Immunology*, 01 September. 1991, vol. 147 (5), 1512-1521 [0006]
- **ROSENBERG E.S. et al.** *Science*, 21 November 1997, vol. 278, 1447-1450 [0008]
- 20 • **LAKE D.F. et al.** *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 08 November 1994, vol. 23, 10849-53 [0010]
- **KLENERMAN P. et al.** *Nature*, 02 June 1994, vol. 2 (369), 355 [0010]
- 25 • **LEHNINGER A.L.** *Principles of Biochemistry Worth Publishers Inc.*, 1982 [0013]
- **SAMBROOK et al.** *Molecular Cloning: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory Press*, 1969 [0032]
- 30 • **BARANY; MERRIFIELD.** *The Peptides, Analysis, Synthesis, Biology, Acad. Press*, 1980, vol. 2 [0032]
- **KNEIB-CORONIER; MULLEN.** *Int. J. Peptide Protein Res.*, 1987, vol. 30, 705-739 [0032]
- **FIELDS; NOBLE.** *Int. J. Peptide Protein Res.*, 1990, vol. 35, 161-214 [0032]
- 35 • **AKAJI et al.** *Tetrahedron Letter*, 1992, vol. 33 (8), 1073 -1076 [0033]

40

45

50

55

60

65

# ES 2 307 496 T3

## REIVINDICACIONES

5 1. Composición de vacuna, antígenos y péptidos de VIH, **caracterizada** porque comprende los péptidos de la SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 11 y SEQ ID NO: 18, en la que los extremos terminales de las secuencias pueden ser grupos amino o carboxilo libres, amidas, acetilos o sales de los mismos, junto con un diluyente farmacéuticamente aceptable y opcionalmente un adyuvante, portador y/o vehículo y opcionalmente compuesto(s) inmunoestimulador(es) adicional(es).

10 2. Composición de vacuna, antígenos y péptidos de VIH, según la reivindicación 1, **caracterizada** porque los péptidos se disuelven en una solución salina acuosa y el compuesto inmunoestimulador opcional es un factor de crecimiento de granulocitos-macrófagos.

15 3. Composición de vacuna, antígenos y péptidos de VIH, según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, **caracterizada** porque la composición comprende un adyuvante seleccionado de monofosforil lípido A (MPL<sup>®</sup>), adyuvante completo o incompleto de Freund e hidróxido de aluminio.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

# ES 2 307 496 T3

## LISTA DE SECUENCIAS

### (1) INFORMACIÓN GENERAL:

- 5 (i) SOLICITANTE (para todos los países excepto EE.UU.):
- (A) NOMBRE: Bionor A/S
  - (B) CALLE: Stromdalsjordet 4, Apdo. de Correos 1868 Gulset
  - (C) CIUDAD: Skien
  - 10 (E) PAÍS: Noruega
  - (F) CÓDIGO POSTAL (ZIP): N-3705
  - (G) TELÉFONO: +47 35 50 57 50
  - 15 (H) FAX: +47 35 50 57 01
- (i) INVENTOR Y SOLICITANTE (sólo para EE.UU.):
- (A) NOMBRE: Bitger Sørensen
  - 20 (B) CALLE: Meierlia 3
  - (C) CIUDAD: 3727 Skien
  - (D) PAÍS: Noruega
- 25 (ii) TÍTULO DE LA INVENCIÓN: Inmunoensayo, composiciones de vacuna, antígenos, péptidos de VIH y un método de detección de anticuerpos inducidos por el VIH.
- (iii) NÚMERO DE SECUENCIAS: 25
- (iv) FORMA LEGIBLE POR ORDENADOR:
- 30 (A) TIPO DE MEDIO: Disco flexible
  - (B) ORDENADOR: IBM Compatible
  - (C) SISTEMA OPERATIVO: Windows 95
  - 35 (D) SOFTWARE: Word 7.0
- (v) DATOS DE LA SOLICITUD ACTUAL:
- Prioridad desde NO 1999 1078 presentada el 4 de marzo de 2000
- 40 NÚMERO DE SOLICITUD:

### (2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 1:

- 45 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 20 aminoácidos
  - (B) TIPO: aminoácido
  - 50 (C) TIPO DE CADENA: sencilla
  - (D) TOPOLOGÍA: ambas
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido
- 55 (iii) HIPOTÉTICA: No
- (v) TIPO DE FRAGMENTO: interno
- (ix) CARACTERÍSTICA:
- 60 (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado
  - (B) UBICACIÓN: 1
  - (D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 1 es Lys o Arg
- 65 (ix) CARACTERÍSTICA:
- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado
  - (B) UBICACIÓN: 2

## ES 2 307 496 T3

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 2 es Ala, Gly, Ser o Arg

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 3

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 3 es Leu o Met

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 4

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 4 es Gly o Arg

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 5

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 5 es Pro, Thr, Val, Ser, Gln o Ala

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 6

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 6 es Gly, Ala, Lys, Arg, Gln o Glu

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 8

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 8 es Thr o Ser

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 9

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 9 es Leu o Ile

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 14

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 14 es Thr, Ser o Val

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 15

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 15 es Ala o Ser

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 16

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 16 es Cys o Ser, opcionalmente Cys forma parte de un enlace disulfuro

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 17

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 17 es Gln o Leu.

(ix) CARACTERÍSTICA:

## ES 2 307 496 T3

- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado  
(H) UBICACIÓN: 18  
(U) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en aposición 18 es Gly, Glu o Arg

5

(ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado  
(B) UBICACIÓN: 20  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 20 es Gly o Arg

10

(xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 1:

15

Xaa<sub>1</sub> Xaa<sub>2</sub> Xaa<sub>3</sub> Xaa<sub>4</sub> Xaa<sub>5</sub> Xaa<sub>6</sub> Ala Xaa<sub>8</sub> Xaa<sub>9</sub> Gln Thr Pro Trp Xaa<sub>14</sub> Xaa<sub>15</sub> Xaa<sub>16</sub> Xaa<sub>17</sub>  
1 5 10 15

20

Xaa<sub>18</sub> Val Xaa<sub>20</sub>  
20

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 2:

25

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 20 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(C) TIPO DE CADENA: sencilla  
(D) TOPOLOGÍA: ambas

30

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICA: No

35

(ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado  
(B) UBICACIÓN: 16  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Opcionalmente Cys en la posición 16 forma parte de un enlace disulfuro

40

(xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 2:

45

Lys Ala Leu Gly Pro Gly Ala Thr Leu Gln Thr Pro Trp Thr Ala Cys Gln Gly Val Gly  
1 5 10 15 20

50

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 3:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 20 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(C) TIPO DE CADENA: sencilla  
(D) TOPOLOGÍA: ambas

55

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICA: No

60

(xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 3:

65

Arg Ala Leu Gly Pro Ala Ala Thr Leu Gln Thr Pro Trp Thr Ala Ser Leu Gly Val Gly  
1 5 10 15 20

## ES 2 307 496 T3

### (2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 4:

- 5 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 23-24 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(C) TIPO DE CADENA: sencilla  
10 (D) TOPOLOGÍA: ambas
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido
- (iii) HIPOTÉTICA: No
- 15 (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado  
(B) UBICACIÓN: 1  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 1 es Arg, Lys, Asp o ninguno
- 20 (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado  
(B) UBICACIÓN: 2  
25 (D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 2 es Trp, Gly, Lys o Arg
- (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado  
30 (B) UBICACIÓN: 3  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 3 es Ile, Leu, Val o Met
- (ix) CARACTERÍSTICA:  
35 (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado  
(B) UBICACIÓN: 4  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición es Ile, Val o Leu
- 40 (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado  
(B) UBICACIÓN: 5  
45 (D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 5 es Leu, Met, Val o Pro
- (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado  
50 (B) UBICACIÓN: 12  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 12 es Arg o Lys
- (ix) CARACTERÍSTICA:  
55 (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado  
(B) UBICACIÓN: 13  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 13 es Met o Leu
- (ix) CARACTERÍSTICA:  
60 (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado  
(B) UBICACIÓN: 15  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 15 es Ser, Cys o Gln, opcionalmente Cys  
65 forma parto de un enlace disulfuro
- (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

## ES 2 307 496 T3

(B) UBICACIÓN: 17

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 17 es Thr, Val, Ile, Ser o Ala

5 (ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 18

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 18 es Ser, Gly o Thr

10

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 21

15

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 21 es Asp, Glu, Cys o Gly, opcionalmente Cys forma parte de un enlace disulfuro

(ix) CARACTERÍSTICA:

20

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 22

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 22 es Gly o ninguno

(ix) CARACTERÍSTICA:

25

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 11..12

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "opcionalmente puente de Gly insertado de 0, 1, 2 ó 3 residuos

30

(xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 4:

Xaa<sub>1</sub> Xaa<sub>2</sub> Xaa<sub>3</sub> Xaa<sub>4</sub> Xaa<sub>5</sub> Gly Leu Asn Pro Leu Val [Gly]<sub>n</sub> Xaa<sub>12</sub> Xaa<sub>13</sub> Tyr Xaa<sub>15</sub> Pro  
1 5 10 15

35

Xaa<sub>17</sub> Xaa<sub>18</sub> Ile Leu Xaa<sub>21</sub> Xaa<sub>22</sub>  
20

40

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 5:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

45

(A) LONGITUD: 24 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) TIPO DE CADENA: sencilla

(D) TOPOLOGÍA: ambas

50

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICA: No

(ix) CARACTERÍSTICA:

55

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 23

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Cys en la posición 23 puede formar parte de un puente disulfuro

60

(xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 5:

Trp Ile Ile Pro Gly Leu Asn Pro Leu Val Gly Gly Gly Lys Leu Tyr Ser Pro Thr Ser Ile Leu  
1 5 10 15 20

65

Cys Gly

## ES 2 307 496 T3

### (2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 6:

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

(A) LONGITUD: 24 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) TIPO DE CADENA: sencilla

(D) TOPOLOGÍA: ambas

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

#### (iii) HIPOTÉTICA: No

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 6:

Arg Trp Leu Leu Leu Gly Leu Asn Pro Leu Val Gly Gly Gly Arg Leu Tyr Ser Pro Thr Ser  
1 5 10 15 20  
Ile Leu Gly

### (2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 7:

#### (i) CARACTERÍSTICAS PE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 23 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) TIPO DE CADENA: sencilla

(D) TOPOLOGÍA: ambas

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

#### (iii) HIPOTÉTICA: No

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 7:

Lys Ile Leu Leu Gly Leu Asn Pro Leu Val Gly Gly Gly Arg Leu Tyr Ser Pro Thr Ser Ile  
1 5 10 15 20  
Leu Gly

### (2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 8

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

(A) LONGITUD: 23 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) TIPO DE CADENA: sencilla

(D) TOPOLOGÍA: ambas

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

#### (iii) HIPOTÉTICA: No

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 8

Arg Leu Leu Leu Gly Leu Asn Pro Leu Val Gly Gly Gly Arg Leu Tyr Ser Pro Thr Thr Ile  
1 5 10 15 20  
Leu Gly

## ES 2 307 496 T3

### (2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 9

- 5 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 22-26 aminoácidos
  - (B) TIPO: aminoácido
  - (C) TIPO DE CADENA: sencilla
  - (D) TOPOLOGÍA: ambas
- 10 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido
- (iii) HIPOTÉTICA: No
- 15 (ix) CARACTERÍSTICA:
- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado
  - (B) UBICACIÓN: 1
  - (D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 1 es Asn, Ser, Gly, His, Ala, Pro, Arg o ninguno
- 20 (ix) CARACTERÍSTICA:
- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado
  - (B) UBICACIÓN: 2
  - (D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 2 es Asn, Ala o Lys
- 25 (ix) CARACTERÍSTICA:
- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado
  - (B) UBICACIÓN: 3
  - (D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 3 es Pro, Gln, Gly, Ile o Leu
- 30 (ix) CARACTERÍSTICA:
- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado
  - (B) UBICACIÓN: 7
  - (D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 7 es Val o Ala
- 35 (ix) CARACTERÍSTICA:
- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado
  - (B) UBICACIÓN: S
  - (D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 8 es Gly o Lys
- 40 (ix) CARACTERÍSTICA:
- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado
  - (B) UBICACIÓN: 9
  - (D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 9 es Glu, Asp, Lys, Phe o Thr
- 45 (ix) CARACTERÍSTICA:
- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado
  - (B) UBICACIÓN: 10
  - (D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 10 es Ile, Met, Val o Leu
- 50 (ix) CARACTERÍSTICA:
- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado
  - (B) UBICACIÓN: 11
  - (D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 11 es Tyr, Leu o ninguno
- 55 (ix) CARACTERÍSTICA:
- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado
- 60 (ix) CARACTERÍSTICA:
- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado
- 65 (ix) CARACTERÍSTICA:
- (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

## ES 2 307 496 T3

(B) UBICACIÓN: 12

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 12 es Ser o ninguno

5 (ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 13

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 13 es Arg o ninguno

10 (ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 14

15 (D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 14 es Asp, Arg, Trp, Ala o ninguno

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

20 (B) UBICACIÓN: 15

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 15 es Ile o ninguno

(ix) CARACTERÍSTICA:

25 (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 16

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 16 es Tyr o ninguno

(ix) CARACTERÍSTICA:

30 (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 17

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 17 es Lys o Arg.

35 (ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 18

40 (D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 18 es Arg, Lys o Asp

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

45 (B) UBICACIÓN: 19

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 19 es Trp o Gly

(ix) CARACTERÍSTICA:

50 (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 20

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 20 es Ile, Met, Val, Gln o Ala

55 (ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 21

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 21 es Ile, Val o Ala

60 (ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 22

65 (D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 22 es Leu, Met o Val

(ix) CARACTERÍSTICA:



## ES 2 307 496 T3

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICA: No

5 (xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 11

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

15

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 12

20 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 23 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) TIPO DE CADENA: sencilla

25 (D) TOPOLOGÍA: ambas

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICA: No

30 (xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 12

35 Ala Leu Pro Ile Pro Ala Gly Phe Ile Tyr Gly Gly Gly Arg Ile Tyr Lys Arg Trp Gln Ala Leu  
1 5 10 15 20  
Gly

40 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 13

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 22 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

45 (C) TIPO DE CADENA: sencilla

(D) TOPOLOGÍA: ambas

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

50 (iii) HIPOTÉTICA: No

(xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 13

55 Lys Ile Pro Ile Pro Val Gly Phe Ile Gly Gly Gly Trp Ile Tyr Lys Arg Trp Ala Ile Leu Gly  
1 5 10 15 20

60 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 14

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 24 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

65 (C) TIPO DE CADENA: sencilla

(D) TOPOLOGÍA: ambas

## ES 2 307 496 T3

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICA: No

5 (xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 14

10 Lys Ile Pro Ile Pro Val Gly Thr Leu Leu Ser Gly Gly Gly Arg Ile Tyr Lys Arg Trp Ala Ile  
1 5 10 15 20  
Leu Gly

### (2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 15

15 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 24-28 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

20 (C) TIPO DE CADENA: sencilla

(D) TOPOLOGÍA: ambas

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

25 (iii) HIPOTÉTICA: No

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

30 (B) UBICACIÓN: 1

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 1 es Pro, Lys, Arg o ninguno

(ix) CARACTERÍSTICA:

35 (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 2

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 2 es Glu, Arg, Phe o Lys

(ix) CARACTERÍSTICA:

40 (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 5

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 5 es Pro o Thr

45 (ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 6

50 (D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 6 Met, Thr o Nle

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

55 (B) UBICACIÓN: 7

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 7 es Phe o Leu

(ix) CARACTERÍSTICA:

60 (A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 8

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 8 es Ser, Thr, Ala o Met

65 (ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 9

## ES 2 307 496 T3

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 9 es Ala, Glu o Leu

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 11

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 11 es Ser o ninguno

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 12

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 12 es Ala, Arg o ninguno

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 13

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 13 es Ile, Leu o ninguno

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 14

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 14 es Ser, Ala, Leu o ninguno

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 15

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 15 es Tyr, Glu o Asp

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 16

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 16 es Gly o Asp

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 17

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 17 es Ala o Leu

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 18

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 18 es Thr, Ile, Val, Leu o Asn

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 19

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 19 es Pro, Thr o Ser

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 20

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 20 es Tyr, Phe, Nle, His o Gin

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

## ES 2 307 496 T3

(B) UBICACIÓN: 21

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 21 es Asp, Asn, Leu o Ala

5 (ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 22

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 22 es Leu, Ile, Val o Asn

10

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 23

15

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 23 es Asn, Tyr, Cys o Gly

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

20

(B) UBICACIÓN: 24

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 24 es Thr, Met, Ile, Ala, Val o ninguno

(ix) CARACTERÍSTICA:

25

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 25

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Xaa en la posición 25 es Gly o ninguno

(ix) CARACTERÍSTICA:

30

(A) NOMBRE/CLAVE:;: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 23

35

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "opcionalmente Cys en la posición 23 forma parte de un enlace disulfuro

(ix) CARACTERÍSTICA:

40

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 11...12

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "opcionalmente se inserta un puente de Gly-Arg entre Xaa 11 y 12, siendo n = 1, 2 y 3, y siendo m independientemente de n 0, 1, 2 ó 3.

45 (xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 15

50

Xaa<sub>1</sub> Xaa<sub>2</sub> Ile Ile Xaa<sub>5</sub> Xaa<sub>6</sub> Xaa<sub>7</sub> Xaa<sub>8</sub> Xaa<sub>9</sub> Leu Xaa<sub>11</sub> [Gly]<sub>n</sub> [Arg]<sub>m</sub> Xaa<sub>12</sub> Xaa<sub>13</sub> Xaa<sub>14</sub>

1

5

10

55

Xaa<sub>15</sub> Xaa<sub>16</sub> Xaa<sub>17</sub> Xaa<sub>18</sub> Xaa<sub>19</sub> Xaa<sub>20</sub> Xaa<sub>21</sub> Xaa<sub>22</sub> Xaa<sub>23</sub> Xaa<sub>24</sub> Xaa<sub>25</sub>

15

20

25

60

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 16

65

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 25 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) TIPO DE CADENA: sencilla

70

(D) TOPOLOGÍA: ambas

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

## ES 2 307 496 T3

(iii) HIPOTÉTICA: No

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 24

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Cys en la posición 24 opcionalmente forma parte de un enlace disulfuro"

(xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 16

Lys Phe Ile Ile Pro Nle Phe Ser Ala Leu Gly Gly Ala Ile Ser Tyr Asp Leu Asn Thr Nle  
1 5 10 15 20  
Leu Asn Cys Ile

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 17

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 28 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) TIPO DE CADENA: sencilla

(D) TOPOLOGÍA: ambas

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICA: No

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 26

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Cys en la posición 26 opcionalmente forma parte de un enlace disulfuro"

(xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 17

Lys Phe Ile Ile Pro Nle Phe Ser Ala Leu Ser Gly Gly Gly Ala Ile Ser Tyr Asp Leu Asn  
1 5 10 15 20  
Thr Phe Leu Asn Cys Ile Gly  
25

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 18

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 27 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) TIPO DE CADENA: sencilla

(D) TOPOLOGÍA: ambas

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICA: No

(xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 18

Arg Phe Ile Ile Pro Nle Phe Thr Ala Leu Ser Gly Gly Arg Arg Ala Leu Leu Tyr Gly Ala  
1 5 10 15 20  
Thr Pro Tyr Ala Ile Gly  
25

## ES 2 307 496 T3

### (2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 19

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

- 5 (A) LONGITUD: 24 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(C) TIPO DE CADENA: sencilla  
10 (D) TOPOLOGÍA: ambas

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICA: No

15 (xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 19

Lys Ile Ile Pro Nle Phe Ser Ala Leu Gly Gly Gly Arg Leu Leu Tyr Gly Ala Thr Pro Tyr Ala  
1 5 10 15 20  
Ile Gly

### (2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 20

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

- 25 (A) LONGITUD: 25 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
30 (C) TIPO DE CADENA: sencilla  
(D) TOPOLOGÍA: ambas

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

35 (iii) HIPOTÉTICA: No

(xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 20

Arg Ile Ile Pro Nle Phe Thr Ala Leu Ser Gly Gly Gly Arg Leu Leu Tyr Gly Ala Thr Pro Tyr  
1 5 10 15 20  
Ala Ile Gly  
25

### (2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 21

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

- 50 (A) LONGITUD: 44 aminoácidos  
(B) TIPO: aminoácido  
(C) TIPO DE CADENA: doble  
55 (D) TOPOLOGÍA: ambas

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido dimérico

(iii) HIPOTÉTICA: No

60 (ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: enlace disulfuro entre la posición 16 en la SEQ ID NO: 2 y la posición 23 en la SEQ ID NO: 5

### (2) INFORMACIÓN PARA IBA SEQ ID NO: 22

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

## ES 2 307 496 T3

(A) LONGITUD: 40 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) TIPO DE CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: ambas

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido dimérico

(iii) HIPOTÉTICA: No

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: enlace disulfuro entre la posición 16 en la SEQ ID NO: 2 y la posición 16 en la SEQ ID NO: 2

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= ""

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 23

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 48 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) TIPO DE CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: ambas

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido dimérico

(iii) HIPOTÉTICA: No

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: enlace disulfuro entre la posición 23 en la SEQ ID NO: 5 y la posición 23 en la SEQ ID NO: 5

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 24:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 24 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) TIPO DE CADENA: sencilla

(D) TOPOLOGÍA: ambas

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICA: No

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 23

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Cys en la posición 23 puede formar parte de un puente disulfuro"

(xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 24:

Asn Ile Pro Ile Pro Val Gly Asp Ile Tyr Gly Gly Gly Asp Ile Tyr Lys Arg Tyr Gln Ala  
1                    5                    10                    15                    20

Leu Cys Leu

## ES 2 307 496 T3

### (2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 25

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

5

(A) LONGITUD: 24 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) TIPO DE CADENA: sencilla

10

(D) TOPOLOGÍA: ambas

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: péptido

(iii) HIPOTÉTICA: No

15

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: Sitio modificado

(B) UBICACIÓN: 23

20

(D) OTRA INFORMACIÓN: /nota= "Cys en la posición 23 opcionalmente forma parte de un enlace disulfuro"

(xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 25

25

Trp Ile Ile Pro Nle Phe Ser Ala Leu Gly Gly Ala Ile Ser Tyr Asp Leu Asn Thr Nle  
1 5 10 15 20  
Leu Asn Cys Ile

30

35

40

45

50

55

60

65