

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 394 035**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/00** (2006.01)

**G01N 33/50** (2006.01)

**C07K 14/705** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.04.2009 E 09730652 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la solicitud europea: **09.02.2011 EP 2280723**

54 Título: **Métodos para inmunocontracepción específica para ciertas especies de animales**

30 Prioridad:

**30.05.2008 US 130473 P**

**26.06.2008 US 133201 P**

**07.04.2008 US 123275 P**

**06.02.2009 US 150530 P**

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

**15.01.2013**

73 Titular/es:

**AUBURN UNIVERSITY (100.0%)**

**570 Devall Drive**

**Auburn, AL 36832, US**

72 Inventor/es:

**SAMOYLOVA, TATIANA I.;**

**BAKER, HENRY J.;**

**COX, NANCY;**

**DITCHKOFF, STEPHEN y**

**VAN KAMPEN, KENT**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 394 035 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

Métodos para inmunokontracepción específica para ciertas especies de animales

## ANTECEDENTES

5 El presente tema tratado se refiere a los campos de la selección de péptidos y polipéptidos, la inmunología y la contracepción dirigida en animales. En particular, el presente tema tratado se refiere a métodos para seleccionar péptidos y polipéptidos que se unen a la zona pelúcida (ZP) de los ovocitos.

10 La sobrepoblación de animales de múltiples especies que incluyen animales domésticos, agresivos y salvajes produce diversos problemas económicos, de salud y de seguridad. Por ejemplo, los jabalís provocan significativos daños físicos en cultivos agrícolas, suelos, viñedos, plantaciones de árboles, césped, agrupaciones de plantas raras, hábitats de vida salvaje, sitios arqueológicos y vehículos (Véase Ditchkoff SS, West BC. Ecology and management of feral hogs. Human-Wildlife Conflicts 2007; 1(2): 149-151). Los jabalís compiten con el ganado y la vida salvaje nativa por comida, y se alimentan de animales domésticos y de vida salvaje. Los jabalís son portadores de al menos treinta enfermedades víricas y bacterianas importantes y treinta y siete parásitos que afectan a humanos, mascotas, ganado y vida salvaje (por ejemplo, brucelosis, salmonelosis, enfermedades debidas a cepas patógenas de *E. coli*, rabia, tuberculosis y tularemia). Los jabalís también podrían propagar potencialmente otras enfermedades humanas y animales que no se dan actualmente en los Estados Unidos (Véase Hutton T, DeLiberto T, Owen S, Morrison B. Disease risks associated with increasing feral swine numbers and distribution in the United States. Midwest Association of Fish and Wildlife Agencies 2006). Los programas de control para la erradicación de jabalís, tales como envenenamiento, trampas, caza, etc., son ineficaces, caros y generalmente inaceptables por parte del público. Los contraceptivos para animales actualmente disponibles no son selectivos y afectan a múltiples especies y, por lo tanto, no puede permitirse su uso en entornos no controlados, tales como los hábitats naturales de los animales salvajes. (Véase Miller LA, Johns BE, Killian GJ. Immunocontraception of White-tailed deer with GnRH vaccine. Am J Reprod Immunol 2000; 44(5): 266-274; y Killian G, Miller L, Rhyan J, Doten H. Immunocontraception of Florida feral swine with a single-dose GnRH vaccine. American Journal of Reproductive Immunology 2006; 55:378-384). Por tanto, existe una necesidad urgente de vacunas inmunokontraceptivas específicas de especie que puedan afectar solo a las especies diana y que puedan administrarse a través de una administración oral u oronasal razonablemente económica. Los ejemplos adicionales de especies, cuya sobrepoblación supone varios tipos de riesgos económicos y sanitarios, incluyen coyotes, ciervos y mapaches.

## RESUMEN

30 La invención se refiere a un método para identificar un péptido que se une específicamente a la zona pelúcida de los ovocitos de una especie animal diana de acuerdo con las reivindicaciones 1-5.

35 Se describen métodos, composiciones, péptidos de unión a zona pelúcida (ZP) y vectores para expresar los péptidos para uso en la inmunokontracepción de animales. Las composiciones descritas pueden incluir composiciones inmunogénicas o de vacuna que comprenden péptidos de unión a ZP o vectores que expresan péptidos de unión a ZP. Las composiciones descritas también pueden incluir composiciones cebo que comprenden las composiciones inmunogénicas o de vacuna.

40 Preferiblemente, los péptidos de unión a ZP, los vectores, las composiciones inmunogénicas o de vacuna y las composiciones de cebo son específicos para una especie. Por ejemplo, los péptidos y polipéptidos preferiblemente se unen de manera específica a la ZP de ovocitos de una especie animal diana y no se unen a la ZP de ovocitos de una especie animal no diana. Los péptidos y polipéptidos pueden expresarse a través de vectores que incluyen vectores víricos, bacterianos o de otro tipo. Preferiblemente, el vector es específico de una especie en el sentido de que el vector infecta o expresa el péptido o polipéptido de una especie animal seleccionada y no infecta o expresa el péptido o polipéptido de una especie animal no seleccionada. Las composiciones descritas en la presente memoria pueden comprender los péptidos, polipéptidos o vectores que expresan los péptidos o polipéptidos. Las composiciones descritas pueden ser inmunogénicas o vacinogénicas y pueden administrarse a animales para una inmunokontracepción específica de especie a través de la inducción de una respuesta inmune anti-esperma específica de especie. Las composiciones pueden formularse como composiciones de cebo que también son específicas de especie en tanto en cuanto atraen una especie animal seleccionada y no atraen a especies animales no seleccionadas.

50 Los métodos descritos incluyen métodos para identificar un péptido o polipéptido que se una específicamente a la zona pelúcida de ovocitos procedentes de una especie animal diana. Los métodos pueden incluir: (a) aislar ovocitos de uno o más animales (por ejemplo, ovocitos porcinos, ovocitos felinos, ovocitos caninos u ovocitos bovinos); (b) poner en contacto los ovocitos con una biblioteca de fagos; (c) seleccionar los fagos que se unan específicamente a los ovocitos de una especie animal diana (por ejemplo, los fagos que se unan específicamente a ovocitos porcinos frente a ovocitos de otros animales (por ejemplo, ovocitos felinos, ovocitos caninos u ovocitos bovinos)), identificando de este modo péptidos que se unen a la ZP de los ovocitos de las especies animales diana. Los

- métodos pueden incluir: (a) poner en contacto ovocitos de una o más especies de animal con una biblioteca de fagos; (b) separar los fagos que no se unen a los ovocitos de una o más especies de animal no diana (por ejemplo, ovocitos felinos, ovocitos caninos y ovocitos bovinos) de la biblioteca de fagos; y (c) poner en contacto los fagos separados con ovocitos de una especie animal diana (por ejemplo, ovocitos porcinos); y (d) separar los fagos que se unen a los ovocitos de las especies animales diana (por ejemplo, ovocitos porcinos), identificando con ello los péptidos que se unen selectivamente a la ZP de los ovocitos de las especies animales diana (por ejemplo, ovocitos porcinos). Alternativamente, los métodos pueden incluir: (a) poner en contacto ovocitos de una o más especies animales con una biblioteca de fagos; (b) separar los fagos que se unen a los ovocitos de las especies animales diana (por ejemplo, ovocitos porcinos) de la biblioteca de fagos; y (c) poner en contacto los fagos separados con ovocitos de una o más especies animales no diana (por ejemplo, ovocitos felinos, ovocitos caninos u ovocitos bovinos); y (d) separar los fagos que no se unen a los ovocitos de la especie o especies animales no diana, identificando de este modo los péptidos que se unen selectivamente a la ZP de los ovocitos de la especie animal diana (por ejemplo, ovocitos porcinos). En los métodos descritos, la biblioteca de fagos puede ponerse en contacto con un número de ovocitos relativamente pequeño (por ejemplo, menos de aproximadamente 1000 ovocitos).
- También se describen péptidos o polipéptidos identificados por los métodos descritos. En algunas realizaciones, los péptidos o polipéptidos identificados pueden incluir una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2 (DANRLPHPANIN), SEQ ID NO: 18 (TLGWTANEAPRR), SEQ ID NO: 19 (LLADTTTHRPWT), SEQ ID NO: 20 (SQSPAMYSQTRP), SEQ ID NO: 21 (AVTQHLKFKGFN) y SEQ ID NO: 22 (ANFNMTHHQGHK). También se describen polinucleótidos que codifican los péptidos o polipéptidos identificados. El polinucleótido puede estar ligado operativamente a una secuencia promotora como un polinucleótido recombinante. El polinucleótido recombinante puede estar presente en un vector que se utiliza para transformar una célula aislada. Preferiblemente, el vector es capaz de expresar el péptido o polipéptido codificado. El péptido o polipéptido codificado puede producirse mediante un método que incluye: a) cultivar la célula transformada en condiciones adecuadas para la expresión del polipéptido; y b) recuperar el polipéptido así expresado. Alternativamente, el péptido puede prepararse mediante un método sintético.
- Los péptidos o polipéptidos identificados pueden utilizarse como antígenos. En algunas realizaciones, los péptidos o polipéptidos identificados pueden modificarse para potenciar la antigenicidad. Por ejemplo, los péptidos o polipéptidos pueden conjugarse con una o más proteínas portadoras (por ejemplo, hemocianina de lapa de herradura (KLH)).
- Las composiciones descritas pueden incluir composiciones inmunogénicas o composiciones de vacuna. En algunas realizaciones, las composiciones incluyen (a) uno o más polipéptidos que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada de un grupo que consiste en SEQ ID NO: 2 (DANRLPHPANIN), SEQ ID NO: 18 (TLGWTANEAPRR), SEQ ID NO: 19 (LLATTHRPWT), SEQ ID NO: 20 (SQSPAMYSQTRP), SEQ ID NO: 21 (AVTQHLKFKGFN) y SEQ ID NO: 22 (ANFNMTHHQGHK); y (b) un excipiente, vehículo o diluyente adecuado. Por ejemplo, las composiciones pueden incluir dos o más polipéptidos, en donde cada uno de los dos o más polipéptidos comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de un grupo que consiste en SEQ ID NO: 2 (DANRLPHPANIN), SEQ ID NO: 18 (TLGWTANEAPRR), SEQ ID NO: 19 (LLATTHRPWT), SEQ ID NO: 20 (SQSPAMYSQTRP), SEQ ID NO: 21 (AVTQHLKFKGFN) y SEQ ID NO: 22 (ANFNMTHHQGHK). Las composiciones inmunogénicas o las composiciones de vacuna pueden incluir además un adyuvante tal como se describe en la presente memoria. Las composiciones inmunogénicas o composiciones de vacuna además pueden incluir un agente inmunoestimulador (por ejemplo, un oligodesoxinucleótido inmunoestimulador tal como CpG).
- También se describen vectores que expresan los péptidos o polipéptidos descritos. Los vectores adecuados incluyen, aunque sin limitación, vectores víricos y vectores bacterianos. El vector puede ser específico de especie (por ejemplo, un vector vírico que infecta específicamente a un jabalí). Los vectores pueden formularse como una composición inmunogénica o una composición de vacuna. En algunas realizaciones, las composiciones inmunogénicas o las composiciones de vacuna comprenden uno o más vectores (por ejemplo, vectores específicos de especie) que expresan uno o más péptidos o polipéptidos específicos de especie (por ejemplo, péptidos o polipéptidos que se unen a ZP específicos de especie).
- Las composiciones descritas también pueden incluir composiciones de cebo para atraer una especie animal diana. Por ejemplo, la composición descrita puede incluir composiciones de cebo específicas de especie para cerdos (por ejemplo, jabalís). Las composiciones de cebo pueden incluir péptidos de unión a ZP (por ejemplo, tal como los descritos en la presente memoria), los vectores que expresan los péptidos de unión a ZP, las composiciones inmunogénicas que incluyen péptidos de unión a ZP, o las composiciones de vacuna que incluyen los péptidos de unión a ZP. Las composiciones de cebo de los mismos pueden ser específicas de especie en uno o más aspectos, que incluyen, aunque sin limitación: (1) las composiciones de cebo atraen una especie animal diana (por ejemplo, un jabalí); (2) las composiciones de cebo comprenden un vector específico de especie (por ejemplo, un vector vírico que infecta específicamente una especie animal diana o que es capaz de replicarse o expresar una proteína codificadora sólo en una especie animal diana); (3) la composición de cebo comprende péptidos o polipéptidos de unión a ZP específicos de especie o comprende vectores que expresan péptidos o polipéptidos de unión a ZP

específicos de especie.

5 También se describen métodos para usar los péptidos, polipéptidos o composiciones que contienen los péptidos o polipéptidos. Los métodos descritos pueden incluir la administración de las composiciones inmunogénicas o de las composiciones de vacuna descritas (opcionalmente formuladas como una composición de cebo) a un animal con el objetivo de inducir una respuesta inmune (por ejemplo, una respuesta de anticuerpos antiesperma, una respuesta de células T, o ambas). Los métodos descritos pueden incluir métodos para producir anticuerpos que se unan a esperma (por ejemplo, anticuerpos anti-esperma de jabalí). Como tales, las composiciones pueden incluir una cantidad efectiva de un péptido o polipéptido (por ejemplo, un péptido de unión a ZP) para inducir una respuesta inmune contra esperma. Alternativamente, las composiciones pueden incluir un vector que expresa una cantidad efectiva de un péptido o polipéptido (por ejemplo, un péptido de unión a ZP) para inducir una respuesta inmune contra esperma. En los métodos, las composiciones pueden administrarse a un animal de cualquier sexo (es decir, masculino o femenino). Los métodos pueden incluir además aislar los anticuerpos inducidos a partir de una muestra obtenida del animal (por ejemplo, a partir de sangre o de un producto sanguíneo tal como suero o plasma).

15 Los métodos descritos también pueden incluir métodos para inmunizar un animal frente a la concepción (es decir, métodos inmunocontraceptivos). Los métodos pueden incluir la administración de la composición inmunogénica o composición de vacuna descritas (opcionalmente formuladas como composiciones de cebo) a un animal tal como un jabalí hembra, inmunizando así al animal frente a la concepción. En algunas realizaciones, el animal es inmunizado durante un periodo de tiempo temporal (por ejemplo, durante un periodo de semanas o meses).

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

20 Figura 1: ilustra un método mediante el cual se usan bibliotecas de péptidos que presentan fagos para identificar péptidos que imiten péptidos o proteínas superficiales de esperma que se unan a la zona pelúcida en la fertilización.

Figura 2: ilustra una estrategia para el control de sobrepoblación específica de especie para animales domésticos, agresivos o salvajes que tiene tres niveles principales de especificidad de especie (ejemplificado para jabalís en esta figura).

25 Figura 3: ilustra la selección de péptidos de unión a ZP específicos de especie usando una biblioteca de presentación de fagos. Para que los péptidos sean específicos de especie, antes de la reacción con los ovocitos de la especie diana, una biblioteca de presentación de fagos se hace reaccionar con ovocitos de especies no diana que tienen una estrecha homología con respecto a proteínas de ZP.

Figura 4: proporciona un esquema de los experimentos descritos en los Ejemplos 1 y 2.

30 Figura 5: proporciona una lista de secuencias de péptidos de unión a ZP porcinos y estructuras identificadas en el Experimento 1 mediante selección a partir de una biblioteca de presentación de fagos PhD-12 sobre ovocitos porcinos intactos rodeados por ZP, tal como se describe en el Ejemplo 1.

35 Figura 6: proporciona una lista de secuencias de péptido de unión a ZP específicas de porcino y estructuras identificadas en el Experimento 2 mediante selección a partir de una biblioteca de presentación de fagos PhD-12 sobre ovocitos porcinos intactos rodeados por ZP posteriormente a una selección sustractiva sobre ovocitos no porcinos (es decir, ovocitos felinos, ovocitos caninos y ovocitos bovinos).

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA

El tema tratado se describe más detalladamente a continuación.

40 A menos que se especifique o se indique por el contexto de otro, los términos “un”, “una” y “el/la/los/las” significan “uno o más”.

45 Tal como se usan en la presente memoria, “aproximadamente”, “sustancialmente” y “significativamente” serán entendidos por las personas especialistas en la técnica y variarán en cierto grado con el contexto en el que se usen. Si se producen usos de los términos que no sean claros para las personas especialistas en la técnica en el contexto en el que se usen, “aproximadamente” significará más o menos  $\leq 10\%$  del término particular y “sustancialmente” y “significativamente” significarán más o menos  $> 10\%$  del término particular.

Tal como se usan en la presente memoria, los términos “incluye” y “que incluye” tienen el mismo significado que los términos “comprende” y “que comprende”.

50 Los términos “sujeto” y “paciente” pueden usarse de manera intercambiable en la presente memoria. Un paciente o sujeto puede referirse a un paciente o sujeto no humano en riesgo de concepción (por ejemplo, un puerco que incluye un jabalí). El término “puerco” tal como se usa en la presente memoria pretende incluir puercos domésticos, salvajes y jabalís (por ejemplo, *Sus scrofa*) y puede usarse de manera intercambiable con el término “cerdo” o

“porcino”.

El término “muestra” se usa en su sentido más amplio. Una muestra puede comprender un fluido corporal (por ejemplo, sangre o un producto sanguíneo tal como suero o plasma obtenido de un sujeto o paciente).

5 Los métodos descritos pueden incluir poner en contacto ovocitos aislados con una biblioteca de fagos. Tal como se utilizan en la presente memoria, la expresión “poner en contacto” puede incluir colocar los ovocitos aislados y la biblioteca de fagos en un recipiente de reacción y hacer reaccionar o incubar los ovocitos aislados y la biblioteca de fagos en las condiciones que promuevan la interacción entre los ovocitos aislados y la biblioteca de fagos. Los métodos descritos pueden incluir separar los fagos que se unen a los ovocitos (o que no se unen a los ovocitos) a partir de la biblioteca de fagos. Tal como se emplea en la presente memoria, el término “separar” puede utilizarse de manera intercambiable con el término “aislar” o “extraer”.

10 Un aspecto de la presente descripción se refiere a métodos para aislar péptidos y polipéptidos que se unen a la ZP de ovocitos a través de una presentación de fagos. Los métodos para llevar a cabo la presentación de fagos son conocidos en la técnica (Véase, por ejemplo, la Patente de EE.UU. n° 7.094.868 que describe el aislamiento de péptidos mediante presentación de fagos). Otros métodos relacionados para la presentación de fagos y el aislamiento de péptidos de unión a ZP se describen en la Solicitud de Patente de EE.UU. n° 12/266.944, presentada el 7 de noviembre de 2008 (publicada como US2009280137).

15 En particular, los métodos descritos en la presente memoria pueden utilizarse para aislar péptidos y polipéptidos que se unen selectivamente a la ZP de ovocitos de una especie animal diana respecto a la ZP de ovocitos de una especie animal no diana a través de una presentación de fagos. El método puede incluir: (a) aislar ovocitos de una o más especies de animal (por ejemplo, ovocitos porcinos, ovocitos felinos, ovocitos caninos u ovocitos bovinos); (b) poner en contacto los ovocitos con una biblioteca de fagos; (c) seleccionar fagos que se unen a los ovocitos (por ejemplo, fagos que se unen selectivamente a ovocitos de una especie animal), identificando así péptidos que se unen a la ZP de los ovocitos. Sorprendentemente, en los métodos descritos, la biblioteca de fagos puede ponerse en contacto con un número relativamente reducido de ovocitos (por ejemplo, menos de aproximadamente 1000 ovocitos). Generalmente se entiende en el campo de la tecnología de presentación de fagos que es necesario un número significativo de células (normalmente millones) para una selección exitosa de péptidos de unión a célula sobre células intactas. Dicho número significativo de células se puede lograr fácilmente para la gran mayoría de tipos celulares mediante propagación en medio de cultivo celular. Sin embargo, los ovocitos no pueden obtenerse a través de cultivo celular y los ovocitos con ZP alrededor deberían aislarse directamente de ovarios extraídos de animales. Generalmente, sólo se puede aislar un número pequeño de ovocitos a partir de un único par de ovarios de mamífero (es decir, como mínimo 2-3 y de media varias docenas), dependiendo de la especie animal y de su edad o condición). Como tal, cabría esperar que se necesiten muchos animales a fin de obtener un número suficiente (millones) de ovocitos para los protocolos de selección mediante presentación de fagos usados habitualmente. Además del enorme número de animales necesario para aislar un número suficiente de ovocitos, el procedimiento de aislamiento de ovocitos requiere mucho tiempo y generalmente necesita de varias horas para que un técnico experimentado aisle incluso un número relativamente pequeño de ovocitos. Por tanto, requeriría miles de animales y años de trabajo para poder aislar el número de ovocitos necesario para los protocolos aceptados actualmente. Por estas razones, no se puede disponer fácilmente de millones de ovocitos para su uso en los protocolos de selección de presentación de fagos que se utilizan generalmente en la técnica. Por lo tanto, en la presente memoria se desarrolló un procedimiento de selección de presentación de fagos que no requiere más de 1000 ovocitos rodeados de ZP.

20 Los péptidos y polipéptidos contemplados en la presente memoria se unen específicamente a ZP. Además, los péptidos y polipéptidos contemplados en la presente memoria pueden utilizarse en composiciones inmunogénicas o en vacunas para activar anticuerpos que se unen específicamente a esperma. A este respecto, las expresiones “se une específicamente” y “se unen específicamente” se refieren a la interacción entre el polipéptido (o péptido) y la ZP; o a la interacción entre esperma y un anticuerpo (u otra molécula de unión). La interacción depende de la presencia de una estructura particular de la proteína, por ejemplo, el determinante antigénico o epítipo presente sobre el polipéptido o péptido, reconocido por el anticuerpo o molécula de unión. Por ejemplo, si un anticuerpo es específico del epítipo “A”, la presencia de un polipéptido que comprende el epítipo A, o la presencia de A no marcado libre, en una reacción que contiene A no marcado libre y el anticuerpo reducirá la cantidad de A marcado que se une al anticuerpo.

25 Los péptidos y polipéptidos descritos en la presente memoria pueden describirse a través de su “secuencia de aminoácidos”. Tal como se usa en la presente memoria, la expresión “secuencia de aminoácidos” se refiere a una secuencia de oligopéptido, péptido, polipéptido o proteína, o un fragmento de cualquiera de ellos, y a moléculas naturales o sintéticas. Los términos “péptido” y “polipéptido” pueden usarse de manera intercambiable en la presente memoria. Generalmente, el término “péptido” se refiere a un polímero de aminoácidos que tiene un número relativamente bajo de residuos de aminoácido (por ejemplo, no más de aproximadamente 50, 40, 30, 20, 15, 12 ó 7 residuos de aminoácido). En su mayor parte, los péptidos comprenderán al menos aproximadamente 7 a

- aproximadamente 50 aminoácidos, preferiblemente al menos aproximadamente 7 a aproximadamente 30 aminoácidos, más preferiblemente aproximadamente 7 a aproximadamente 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 ó 20 aminoácidos. Generalmente, el término “polipéptido” se refiere a un polímero de aminoácido que tiene mayor número de residuos de aminoácido que un péptido. El término “proteína” también puede usarse en la presente memoria de manera intercambiable con el término “polipéptido”.
- Los péptidos aquí descritos pueden ser sintéticos. Tal como se usan en la presente memoria, “péptido sintético” se refiere a un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos que no es una secuencia nativa o que no está en su contexto nativo y que confiere en fago mostrando la capacidad de unirse o de unirse preferencialmente a una población celular concreta. Con “no está en su contexto nativo” se pretende indicar que el péptido está sustancial o esencialmente libre de secuencias de aminoácido que acompañan de forma natural a la secuencia de aminoácidos del péptido en la proteína nativa que comprende la secuencia de aminoácidos del péptido. Por ejemplo, un péptido sintético que no está en su contexto nativo puede estar rodeado en cualquiera de sus extremos, o en ambos, por no más de 50, 40, 30, 20, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) presente(s) en la proteína nativa.
- Los péptidos y polipéptidos descritos en la presente memoria pueden exhibir al menos un aumento de dos veces, tres veces, cuatro veces, cinco veces, seis veces, siete veces, diez veces, veinte veces, treinta veces o más en la afinidad de unión a ZP de ovocitos respecto a al menos una categoría o tipo de otra célula. Se dice que los péptidos y polipéptidos que exhiben dichas características de unión exhiben una unión preferente a ZP. Los péptidos o polipéptidos que no exhiben al menos un aumento de dos veces en la afinidad de unión a ZP respecto a otra categoría o tipo de otra célula, pero que se unen a ZP, se dice simplemente que se unen a ZP.
- Preferiblemente, los péptidos y polipéptidos descritos en la presente memoria se unen selectivamente a la ZP de ovocitos de una especie diana (por ejemplo, ZP de ovocitos porcinos) frente a la ZP de ovocitos de una especie no diana (por ejemplo, ovocitos felinos, ovocitos caninos u ovocitos bovinos). En este sentido, los péptidos y polipéptidos pueden considerarse “específicos de especie”. En algunas realizaciones, los péptidos específicos de especie descritos en la presente memoria pueden exhibir un aumento de al menos dos veces, tres veces, cuatro veces, cinco veces, seis veces, siete veces, diez veces, veinte veces, treinta veces o más en la afinidad por la ZP de ovocitos de una especie diana respecto a la ZP de ovocitos de una especie no diana.
- Tal como se usa en la presente memoria, la expresión “secuencia de ácido nucleico” se refiere a un nucleótido, oligonucleótido, polinucleótido o cualquier fragmento de los mismos. Tal como se usa en la presente memoria, el término “polinucleótido” se refiere a un polímero de nucleótido. Un polinucleótido se puede codificar un péptido o polipéptido como los descritos en la presente memoria. Un polinucleótido puede estar ligado operativamente a una secuencia promotora heteróloga como un polinucleótido recombinante. “Ligado operativamente” se refiere a la situación en la que una primera secuencia de ácido nucleico se coloca en una relación funcional con una segunda secuencia de ácido nucleico. Por ejemplo, un promotor está ligado operativamente a una secuencia codificadora si el promotor afecta a la transcripción o a la expresión de la secuencia codificadora. Las secuencias de ADN ligadas operativamente pueden estar en estrecha proximidad o contiguas y, cuando sea necesario pueden unir dos regiones codificadoras de proteína, en el mismo marco de lectura. Un polinucleótido recombinante que comprende un polinucleótido ligado operativamente a una secuencia promotora puede estar presente en un vector (por ejemplo, un plásmido) que puede utilizarse para transformar una célula hospedante (por ejemplo, en la que el vector incluye además un marcador seleccionable).
- Los péptidos y polipéptidos descritos en la presente pueden aislarse o purificarse sustancialmente. Los términos “aislado” o “sustancialmente purificado” se refieren a péptidos o polipéptidos que se han extraído de su entorno natural y han sido aislados o separados, y están libres en al menos un 60%, preferiblemente en al menos un 75% y aún más preferiblemente en al menos un 90%, de otros componentes con los que se asocian de forma natural.
- También se describen péptidos y polipéptidos identificados por el método de presentación de fagos, y preferiblemente incluyen péptidos y polipéptidos de unión a ZP específicos de especie. Los péptidos identificados en la presente memoria incluyen péptidos que tienen las secuencias de aminoácidos o las estructuras de las SEQ ID NO: 1-26 (preferiblemente las SEQ ID NO: 2 ó 18-26). También se describen polipéptidos que comprenden las secuencias de aminoácidos o las estructuras de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-26, los polinucleótidos que codifican dichos polipéptidos, los polinucleótidos recombinantes que comprenden dichos polinucleótidos, vectores de expresión y métodos para expresar el polipéptido codificado.
- Los péptidos descritos en la presente memoria pueden estar fusionados o conjugados a uno o más péptidos adicionales o restos no peptídicos (por ejemplo, a fin de proveer un antígeno). Por ejemplo, un polipéptido de fusión como el contemplado en la presente memoria puede incluir una fusión de cualquiera de los péptidos o estructuras de las SEQ ID NO: 1-26 y uno o más péptidos inmunogénicos. Los péptidos descritos en la presente memoria pueden estar presentes en un polipéptido (por ejemplo, cuando el polipéptido comprende una o más copias de la secuencia de aminoácidos del péptido, opcionalmente en tándem). Los péptidos descritos pueden modificarse para potenciar la inmunogenicidad. Por ejemplo, los péptidos descritos en la presente memoria pueden ser conjugados por una o más

proteínas vehículo (por ejemplo, hemocianina de lapa de herradura).

5 Los métodos descritos pueden incluir una respuesta inmune contra uno o más péptidos que se unen a ZP (por ejemplo, una respuesta inmune contra uno o más péptidos que se unen a ZP específicos de especie). En algunas realizaciones, los métodos incluyen la inducción de anticuerpo policlonales contra uno o más péptidos que se unen a ZP mediante la administración a un animal de una composición inmunogénica que incluye uno o más de los péptidos (y preferiblemente uno o más péptidos específicos) o que incluye uno o más vectores que expresan uno o más de los péptidos. El animal puede ser un animal no humano (por ejemplo, un puerco). Los anticuerpos policlonales inducidos pueden incluir anticuerpos anti-esperma. Los métodos descritos en la presente memoria pueden incluir la prevención de la concepción mediante la administración al animal de una composición inmunogénica que incluye uno o más de los péptidos que se unen a ZP (y preferiblemente, uno o más péptidos específicos que se unen a la ZP) o que incluye uno o más vectores que expresan uno o más de los péptidos. Por ejemplo, un animal (por ejemplo, un animal no humano tal como un puerco) puede ser protegido contra la concepción mediante la administración al animal de una composición que incluye uno o más péptidos que se unen a la ZP o que incluye uno o más vectores que expresan uno o más péptidos que se unen a la ZP.

15 Las composiciones descritas pueden administrarse como composiciones inmunogénicas o vacunas que utilizan un “régimen de vacunación de inyección principal” seleccionado. Tal como se usa en la presente memoria, un “régimen de vacunación de inyección principal” se refiere a un régimen en el que se administra a un sujeto una primera composición una o más veces (por ejemplo, una vez o dos o tres veces con aproximadamente 2, 3 ó 4 semanas entre administraciones) y a continuación después de un periodo de tiempo determinado tras haber administrado la primera composición (por ejemplo, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 2 meses, aproximadamente 3 meses, aproximadamente 4 meses, aproximadamente 5 meses, aproximadamente 6 meses, o más), se administra al sujeto una segunda composición. La segunda composición también se puede administrar más de una vez, con al menos 2, 3 ó 4 semanas entre administraciones. La primera composición y la segunda composición pueden ser la misma o diferentes.

25 También se describen composiciones inmunogénicas y vacunas para llevar a cabo los métodos descritos. Una composición inmunogénica puede ser monovalente o polivalente. Habitualmente, las composiciones inmunogénicas incluyen uno o más péptidos que se unen a la ZP (por ejemplo, péptidos de unión a ZP específicos de especie), o las composiciones inmunogénicas incluyen uno o más vectores que expresan uno o más péptidos que se unen a la ZP (por ejemplo, vectores específicos de especie que expresan péptidos de unión a ZP específicos de especie). Las composiciones inmunogénicas también pueden incluir un excipiente, vehículo o diluyente adecuado.

30 Los péptidos adecuados para las composiciones inmunogénicas (o para expresión mediante los vectores de las composiciones inmunogénicas) pueden incluir uno o más polipéptidos que comprenden la secuencia de aminoácidos de un péptido como el descrito en la presente memoria, por ejemplo uno o más polipéptidos que comprenden la secuencia de aminoácidos o las estructuras de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-26. En algunas realizaciones, las composiciones inmunogénicas pueden incluir dos o más polipéptidos (o dos o más vectores que expresan dos o más polipéptidos) en donde cada polipéptido de los dos o más polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos o las estructuras de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-26. Las composiciones inmunogénicas pueden incluir un polipéptido o péptido aislado a una concentración suficiente para inducir una respuesta inmunogénica contra esperma (por ejemplo, a través de la inducción de anticuerpos, de una respuesta de células T, o de ambos), o las composiciones inmunogénicas pueden incluir uno o más vectores que expresan el polipéptido o péptido a una concentración suficiente para inducir una respuesta inmunogénica contra esperma (por ejemplo, a través de la inducción de anticuerpos, de una respuesta de células T, o de ambos). En algunas realizaciones, las composiciones inmunogénicas pueden incluir al menos aproximadamente 10 µg del polipéptido o péptido aislado (o preferiblemente, al menos aproximadamente 100 µg del polipéptido o péptido aislado).

45 Las “composiciones inmunogénicas” y las “vacunas” descritas en la presente memoria son capaces de estimular una respuesta inmune en un animal inoculado con la composición inmunogénica o la vacuna. Una respuesta inmune puede incluir la inducción de anticuerpos, la inducción de una respuesta de células T, o ambas. En la presente memoria, el término “prevención” cuando se usa referido a una composición inmunogénica o vacuna puede referirse a la prevención parcial o completa contra la concepción a través de una respuesta inmune inducida por la composición inmunogénica o la vacuna.

50 Una “composición inmunogénica que comprende un péptido o polipéptido dado” se refiere a una formulación en seco o a una disolución acuosa. Un “péptido o polipéptido inmunogénico” es un antígeno que es capaz de provocar una respuesta inmune cuando se introduce en un animal, por ejemplo, un puerco.

55 Los métodos descritos en la presente memoria pueden incluir la administración de una composición inmunogénica o de una vacuna a un animal. Un “animal”, tal como se usa en la presente memoria, puede incluir un animal no humano (por ejemplo, un puerco).

Los métodos descritos en la presente invención también pueden incluir proteger a un animal frente a la concepción o

prevenir que un animal conciba mediante la administración al animal de una composición (por ejemplo, una composición de cebo) que incluye un péptido aislado tal como el descrito en la presente memoria o que incluye un vector que expresa el péptido. La composición administrada puede incluir una composición inmunogénica o una composición de vacuna. Por ejemplo, se puede proteger a un animal (por ejemplo, un puerco) frente a la concepción mediante la administración al animal de una composición de cebo que incluye un polipéptido aislado que comprende una secuencia de aminoácidos o una estructura de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-26 o un vector que expresa un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos o una estructura de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-26. Las composiciones descritas en la presente memoria pueden incluir además un excipiente, vehículo o diluyente adecuado.

El péptido o polipéptido aquí descrito puede expresarse mediante vectores víricos o mediante vectores bacterianos (por ejemplo, incluido como una parte de una composición inmunogénica, vacuna o composición de cebo). Tal como se usa en la presente memoria, un "vector vírico" (por ejemplo, un vector de adenovirus, de virus Sendai o de virus del sarampión) se refiere a ácido nucleico recombinante que ha sido diseñado para expresar un polipéptido heterólogo. El ácido nucleico vírico recombinante habitualmente incluye elementos que actúan en configuración *cis* para la expresión del polipéptido heterólogo. El ácido nucleico vírico recombinante normalmente es capaz de ser empaquetado en un virus colaborador que es capaz de infectar una célula hospedante. Por ejemplo, el ácido nucleico vírico recombinante puede incluir elementos que actúan en configuración *cis* para el empaquetamiento. Habitualmente, el vector vírico no es competente para replicación o está atenuado. Un "virus recombinante atenuado" se refiere a un virus que ha sido alterado genéticamente mediante métodos de biología molecular moderna (por ejemplo, tratamiento con endonucleasa y ligasa de restricción, que lo hacen menos virulento que la variante natural), normalmente mediante eliminación de genes específicos. Por ejemplo, el ácido nucleico vírico recombinante puede carecer de un gen esencial para la producción eficiente o esencial para la producción de virus infeccioso. También se pueden utilizar bacterias recombinantes atenuadas como vectores en las composiciones farmacéuticas y en las vacunas descritas en la presente memoria (por ejemplo, shigella, salmonela, listeria o yersinia recombinantes atenuadas). Los vectores de vacuna bacteriana recombinantes se describen en Daudel y col., "Use of attenuated bacteria as delivery vectors for DNA vaccines", Expert Review of Vaccines, Volumen 6, Número 1, Febrero de 2007, páginas 97-110(14); Shata y col., "Recent advances with recombinant bacterial vaccine vectors", Molec. Med. Today (2000), Volumen 6, Número 2, 1 de febrero de 2000, páginas 66-71; Clare & Dougan, "Live Recombinant Bacterial Vaccines", Novel Vaccination Strategies, 16 de abril de 2004 (editor Stefan H.E. Kaufman); Gentshev y col., "Recombinant Attenuated Bacteria for the Delivery of Subunit Vaccines", Vaccine, Volumen 19, Números 17-19, 21 de marzo de 2001, páginas 2621-2628; Garmory y col., "The use of live attenuated bacteria as a delivery system for heterologous antigens", J. Drug. Target. 2003;11(8-10): 471-9; Patente de EE.UU. n° 6.383.496; y Patente de EE.UU. n° 6.923.958. Preferiblemente, el vector es específico de especie, con lo que el vector infecta selectivamente a una especie animal diana o el vector expresa selectivamente un péptido heterólogo codificado en la especie animal diana tras infectar al animal. Los vectores víricos adecuados para expresar los péptidos y polipéptidos descritos en la presente memoria incluyen adenovirus porcino.

Las composiciones inmunogénicas o las vacunas pueden formularse para la administración en cualquier modo adecuado. Por ejemplo, las composiciones inmunogénicas o las vacunas pueden formularse para al menos una administración oral, administración intranasal, administración intramuscular, administración subdermal, administración subcutánea, administración intravenosa y administración intraperitoneal. Las composiciones inmunogénicas o las vacunas pueden administrarse usando una variedad de métodos que incluyen la administración intranasal y/o parenteral (por ejemplo, intramuscular). En algunas realizaciones de los métodos, la composición inmunogénica o la vacuna se administra intramuscularmente una o más veces a intervalos adecuados (por ejemplo, a intervalos de 2-4 semanas), seguido de la administración de la composición inmunogénica o vacuna al menos una vez intramuscularmente o intranasalmente después de un periodo de tiempo adecuado (por ejemplo, 2-4 semanas después de la última administración parenteral de la vacuna). Las composiciones inmunogénicas o las vacunas pueden administrarse a un animal de cualquier sexo. En algunas realizaciones, el animal es una hembra.

La presente composición inmunogénica y las presentes vacunas pueden formularse con un excipiente, vehículo o diluyente farmacéutica o veterinariamente aceptable. Las formas adecuadas para sistemas inyectables habitualmente incluyen disoluciones acuosas estériles (cuando sean solubles en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de disoluciones o dispersiones inyectables estériles. La formulación debería ser de forma deseable estéril y fluida hasta el punto de que se pueda manejar con facilidad con una jeringa. La forma de dosis debería ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y normalmente se preserva frente a la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilén glicol, polietilén glicol líquido, y otros similares), mezclas adecuadas de los mismos y aceites vegetales. Un posible vehículo es una disolución salina fisiológica. La fluidez apropiada para la disolución puede mantenerse, por ejemplo, usando un recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de una dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos puede conseguirse con diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal (etilmercuri-tiosalicilato de sodio), deomicina, gentamicina y otros similares. En muchos casos,



puede ser preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro de sodio. Una absorción prolongada de las composiciones inyectables, si se desea, puede llevarse a cabo mediante el uso en las composiciones de agentes que retrasan la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

5 La presente composición inmunogénica o las presentes vacunas pueden incluir un adyuvante. El término "adyuvante" se refiere a un compuesto o mezcla que está presente en una composición inmunogénica o en una vacuna y que potencia la respuesta inmune a un antígeno presente en la composición inmunogénica o vacuna. Por ejemplo, un adyuvante puede potenciar la respuesta inmune a un polipéptido presente en una vacuna como la contemplada en la presente memoria, o a un fragmento inmunogénico o variante del mismo como se contempla en la presente memoria. Un adyuvante puede actuar como depósito de tejido que libera lentamente el antígeno y también como un activador del sistema linfóide que potencia de manera no específica la respuesta inmune. Los ejemplos de adyuvantes que pueden emplearse incluyen el adyuvante MPL-TDM (monofosforil lípido A / dicorinomicolato de trehalosa sintético, por ejemplo disponible en GSK Biologicals). Otro adyuvante adecuado es el adyuvante inmunoestimulador AS021/AS02 (GSK). Estos adyuvantes inmunoestimuladores se formulan para proporcionar una fuerte respuesta de células T e incluyen QS-21, una saponina procedente de *Quillay saponaria*, el ligando TL4, un monofosforil lípido A, junto con un vehículo lipídico o liposomal. Otros adyuvantes incluyen, aunque sin limitación, adyuvantes de co-polímero de bloques no iónicos (por ejemplo, el CRL1005), fosfatos de aluminio (por ejemplo,  $AlPO_4$ ), R-848 (un adyuvante de tipo Th1), imiquimod, PAM3CYS, poli(I:C), loxoribina, adyuvantes humanos potencialmente útiles tales como BCG (bacilo Calmette-Guérin) y *Corynebacterium parvum*, oligodesoxinucleótidos CpG (ODN), antígenos derivados de la toxina del cólera (por ejemplo, CTA1-DD), adyuvantes de lipopolisacárido, adyuvante de Freund completo, adyuvante de Freund incompleto, saponina, geles minerales tales como hidróxido de aluminio, sustancias activas superficialmente tales como lisolecitina, polioles pluronic, polianiones, péptidos, emulsiones de aceite o hidrocarburos en agua (por ejemplo, MF59 disponible en Novartis Vaccines o Montanide ISA 720), hemocianinas de lapa de herradura y dinitrofenol.

25 Generalmente es ventajoso formular las presentes composiciones en formas de dosis unitarias para facilitar la administración y la uniformidad de la dosis. La "forma de dosis unitaria" tal como se usa en la presente memoria se refiere a unidades físicamente discretas preparadas como dosis unitarias para los sujetos animales en tratamiento; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada del principio activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. La especificación para las formas de dosis unitarias viene dictada y depende en otros factores de (a) las características únicas del principio activo y del efecto terapéutico particular que se va a lograr; (b) las limitaciones inherentes en la técnica de conformar dicho principio activo para el tratamiento de una enfermedad; y (c) el modo de administración pretendido para la dosis de forma unitaria. En algunas realizaciones, una dosis de composición inmunogénica o vacuna incluye al menos aproximadamente 10 microgramos (preferiblemente 100 microgramos) de uno o más polipéptidos o péptidos aislados como los descritos en la presente memoria.

35 Las disoluciones inyectables estériles pueden prepararse incorporando el polipéptido o péptido aislado en la cantidad deseada en un disolvente apropiado con varios de los otros ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de una esterilización con filtración. Generalmente, las dispersiones pueden prepararse incorporando los diversos ingredientes activos en un vehículo estéril que contenga el medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de entre los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de disoluciones estériles inyectables, los métodos preferidos de preparación son las técnicas de secado a vacío y de secado por congelación, que producen un polvo del ingrediente activo (es decir, una forma liofilizada del ingrediente activo) más cualquier ingrediente adicional deseado a partir de una disolución del mismo previamente esterilizado por filtración.

45 También puede ser ventajoso añadir un estabilizante a las presentes composiciones. Los estabilizantes adecuados incluyen, por ejemplo, glicerol/EDTA, carbohidratos (tales como sorbitol, manitol, trehalosa, almidón, sacarosa, dextrano o glucosa), proteínas (tales como albúmina o caseína) y productos de degradación de proteínas (por ejemplo, gelatina parcialmente hidrolizada). Si se desea, la formulación puede tamponarse mediante métodos conocidos en la técnica, usando reactivos tales como fosfatos de metal alcalino, por ejemplo hidrogenofosfato sódico, dihidrogenofosfato sódico, hidrogenofosfato potásico y/o dihidrogenofosfato potásico. Se pueden usar otros disolventes, tal como etanol o propilén glicol, para aumentar la solubilidad de los ingredientes en la formulación de vacuna y/o la estabilidad de la disolución. Otros aditivos que pueden usarse en la presente formulación incluyen antioxidantes convencionales y agentes quelantes convencionales, tal como ácido etilendiamintetraacético (EDTA, en sus siglas en inglés).

55 La composición inmunogénica descrita, las composiciones de vacuna y los péptidos o vectores de expresión incluidos en las mismas pueden formularse como una composición de cebo específica de especie (por ejemplo, como una vacuna de cebo específica de especie contraceptiva). Preferiblemente, la composición de cebo atrae a una especie animal diana, tal como un jabalí, y no atrae a otras especies animales no diana, tal como aves. Las composiciones de cebo para jabalís son conocidas en la técnica (véase, por ejemplo, el cebo para jabalís de marca PIGOUT® (Animal Control Technologies, Somerton, Victoria AU)) y han sido utilizadas para la vacunación oral de

jabalís (véase, por ejemplo, Ballestreros y col., "Evaluation of baits for oral vaccination of European wild boar piglets", Res. Vet. Sci. 22 de octubre de 2008; Cowled y col., "Vaccination of feral pigs (*Sus scrofa*) using iophenoxic acid as a simulated vaccine", Aust. Vet. J. Enero-Febrero de 2008, 86(1-2):50-5; y Kaden y col., "Oral immunisation of wild boar against classical swine fever: evaluation of the first field study in Germany", Vet. Micro., abril de 2000, 73(2-3): 239-252.

Las composiciones descritas, que pueden incluir composiciones de cebo, pueden administrarse a una especie animal diana. Tal como se contempla en la presente memoria, "administrar" una composición a un animal puede incluir dar de comer al animal una composición de cebo o depositar una composición de cebo en localizaciones en las es probable que el animal entre en contacto con la composición de cebo y huelga, toque, saboree o coma la composición de cebo.

También se describen en la presente memoria antisueros, anticuerpos u otras moléculas de unión aisladas que se unen específicamente a los péptidos descritos en la presente memoria. Por ejemplo, los antisueros, anticuerpos u otras moléculas de unión pueden incluir un anticuerpo aislado que se une específicamente a un polipéptido que consiste en una secuencia de aminoácidos o estructura de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-26. Preferiblemente, los antisueros, anticuerpos u otras moléculas de unión descritas en la presente memoria también se unen específicamente a esperma (por ejemplo, a esperma de puercos). El anticuerpo o molécula de unión aislado puede ser de cualquier isótopo adecuado (por ejemplo, IgG, IgM, IgE, IgD, IgA y mezclas de los mismos). Los anticuerpos pueden ser policlonales o monoclonales. La expresión "anticuerpo o molécula de unión" se refiere a moléculas de inmunoglobulina intactas así como a fragmentos de las mismas, tal como Fab, F(ab)<sub>2</sub> y fragmentos Fv, que son capaces de unirse a un determinante epitópico. Los anticuerpos u otras moléculas de unión pueden ser naturales o sintéticas (por ejemplo, scFv). Otras moléculas de unión pueden incluir fragmentos de anticuerpo (por ejemplo, fragmentos Fab), anticuerpos acoplados y fragmentos de anticuerpo acoplado. Los anticuerpos u otras moléculas de unión que se unen a los péptidos y polipéptidos aquí descritos pueden inducirse o activarse usando el péptido o polipéptido intacto que comprende el péptido intacto como antígeno inmunizante. El polipéptido u oligopéptido usado para inmunizar un animal (por ejemplo, un puerco u otro animal) puede derivarse de la traducción de ARN, o sintetizarse químicamente, y puede conjugarse con una proteína vehículo si se desea. Los vehículos usados habitualmente que se acoplan químicamente a péptidos incluyen la albúmina de suero bovino, la tiroglobulina y la hemocianina de lapa de herradura (KLH). A continuación el péptido acoplado puede usarse para inmunizar al animal. Los anticuerpos u otras moléculas de unión específica pueden conjugarse con un agente terapéutico adecuado (por ejemplo, una toxina) o una etiqueta. Los anticuerpos pueden modificarse para su uso en métodos terapéuticos o diagnósticos.

En la presente memoria también se describen kits. Los kits pueden incluir uno o más componentes para llevar a cabo los métodos descritos en la presente memoria. Por ejemplo, los kits pueden incluir una o más de las composiciones inmunogénicas o vacunas para inmunizar o vacunar a un animal, en donde las composiciones inmunogénicas o vacunas se formulan opcionalmente como composiciones de cebo específicas de especie. Los kits descritos pueden incluir componentes para fabricar composiciones inmunogénicas o vacunas como las aquí descritas, o para formular composiciones de cebo que comprenden las composiciones inmunogénicas o las vacunas. Los componentes de los kits descritos pueden proporcionarse en cualquier forma adecuada (por ejemplo, en forma líquida o en forma liofilizada). Los kits pueden incluir además disolventes para resuspender o disolver una proteína liofilizada.

## EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos son ilustrativos y no pretenden limitar el alcance de la materia de estudio reivindicada.

### Resumen

Se identificaron péptidos que imitaban péptidos/proteínas superficiales de esperma que se unen a la zona pelúcida (ZP) en la fertilización utilizando selección de presentación de fagos. (Véase la Figura 1). La ZP es una barrera protectora glicoproteínica que rodea los ovocitos de mamífero y es esencial para la interacción esperma-ovocito y, por lo tanto, la concepción. La inmunización con péptidos de unión a ZP (que imitan antígenos de esperma) estimula la producción de anticuerpos anti-péptido que actúan como anticuerpos anti-esperma. Los anticuerpos anti-esperma pueden reducir la fertilidad disminuyendo la movilidad del esperma, inhibiendo la reacción de acrosoma o interfiriendo en la unión ovocito-esperma. (Véase Chamley LW, Clarke GN. Antisperm antibodies and conception. Semin Immunopathol 2007; 29(2):169-184; Suri A. Contraceptive vaccines targeting sperm. Expert Opin Biol Ther 2005; 5(3):381-392; y Suri A. Sperm-based contraceptive vaccines: current status, merits and development. Expert Rev Mol Med 2005;7(18): 1-16).

Se desarrolló una estrategia para el control de sobrepoblación específico de especie de animales domésticos, agresivos o salvajes que tiene tres niveles principales de especificidad de especie: Nivel 1: antígeno específico de especie, péptido(s) de unión a ZP que imita(n) antígenos de células de esperma; Nivel 2: sistema de administración de antígenos, por ejemplo, vector vírico o bacteriano específico de especie; y Nivel 3: cebo de especie preferida.

(Véase la Figura 2).

Para el Nivel 1, se identifican los péptidos de unión a ZP específicos de especie usando bibliotecas de presentación de fagos. (Véase Samoylova TI, Smith BF. Identification of cell targeting ligands using random peptide-presenting phage libraries. En: Bird C, Smith BF, editors. Genetic Library Construction and Screening: Advanced Techniques and Applications. Heidelberg: Springer-Verlag, 2002:209-231). Las bibliotecas de presentación de fagos son mezclas de miles de millones de fagos diseñados genéticamente que presentan péptidos ajenos (no de origen fago) adicionales sobre sus superficies. En general, para identificar péptidos de unión a diana, en primer lugar se hace reaccionar una biblioteca de péptidos con la diana. Después de eso, las partículas de fago no ligadas a la diana son eliminadas mediante etapas de lavado, y los fagos específicos de la diana (unidos a la diana a través de los péptidos presentados) son recuperados y amplificados. Para enriquecer los fagos específicos de diana, el procedimiento completo se puede repetir varias veces (por ejemplo, tres o cuatro veces). Para identificar las secuencias de los péptidos responsables de la unión a la diana, se aíslan ADN's de fagos, se secuencian y se traducen en secuencias de péptido. En la estrategia desarrollada en la presente memoria, con el objetivo de seleccionar péptidos que sean específicos de especie, antes de la reacción con ovocitos de la especie diana, se hace reaccionar una biblioteca de fagos con ovocitos de especies no diana que tengan una estrecha homología con respecto a las glicoproteínas de ZP. En el ejemplo mostrado en la Figura 3, para seleccionar antígenos de péptido que sean específicos de puercos, se llevaron a cabo etapas de selección sustractiva sobre proteínas ZP de especies de animales con una homología estrecha antes de las etapas de selección sobre ZP de ovocitos porcinos. Estas especies de animales con una homología estrecha incluyeron gatos, perros y vacas. (Véase Conner SJ, Lefievre L, Hughes DC, Barratt CL. Cracking the egg: increased complexity in the zona pellucida. Hum Reprod 2005; 20(5):1148-1152). Dichas etapas sustractivas eliminan los fagos que se unen a ZP sobre ovocitos de especies no diana, que incluyen aquellos que son comunes a la especie diana y a las especies no diana. Las etapas de selección sustractiva sobre ovocitos de especies no diana van seguidas de una selección de unión de fagos a ZP de ovocitos porcinos específica de especie.

Para el Nivel 2, las secuencias de oligonucleótidos que codifican para antígenos de péptido de unión a ZP específicos de especie son insertadas en vectores víricos, vectores bacterianos u otros vectores específicos de especie. Aquí el vector es un mecanismo de administración que se usa para transferir material genético (oligonucleótido que codifica un antígeno de péptido) en células hospedantes. Como resultado, las células que son transfectadas con el material genético específico expresan el péptido deseado que a continuación estimula una respuesta inmune. Adicionalmente, los potenciadores inmunes pueden incluirse en la formulación para mejorar la inmunogenicidad. Los ejemplos de vectores de administración biológica específicos de especie que podrían ser sistemas de administración apropiados para puercos domésticos, salvajes o jabalís incluyen adenovirus específicos porcinos (véase Hammond JM, Johnson MA. Porcine adenovirus as a delivery system for swine vaccines and immunotherapeutics. Vet J. 2005 Enero; 169(1):17-27) y cepas de *Salmonella sp.* restringidas principalmente a infectar puercos.

Para el Nivel 3, la vacuna vector se incorpora en un cebo preferido por la especie. La composición del cebo se formula específicamente para la especie diana (por ejemplo, jabalís). Según el animal entra en contacto, huele y come el cebo, se inmuniza y la respuesta inmune a la vacuna bloquea la fertilización. Adicionalmente, el cebo puede distribuirse en sistemas de alimentación diseñados para excluir especies diferentes a la especie diana.

#### 40 Ejemplo 1: Identificación de péptidos que se unen a ZP de ovocito de cerdo

Los péptidos que se unen a glicoproteínas de ZP sobre ovocitos porcinos intactos fueron identificados usando la biblioteca de péptidos de presentación de fagos PhD-12 adquirida en New England BioLabs. La estrategia utilizada seleccionó péptidos que imitan el antígeno de esperma a nivel de unión ZP-esperma. Para el Experimento 1 se llevaron a cabo tres rondas de selección sobre ovocitos de cerdo. (Véase la Figura 4). Los ovocitos de cerdo y los ovocitos de especies no diana (es decir, ovocitos de gato, perro y vaca como se utilizan en el Ejemplo 2) se obtuvieron utilizando una modificación del método descrito por Dunbar y col. (Biol. Reprod. 1980; 22:941-954). En la primera ronda de selección, se diluyó una alícuota de la biblioteca primaria en un tampón de bloqueo y se incubó con 1000 ovocitos de cerdo intactos rodeados de ZP. Tras la incubación, los fagos que expresan péptidos no unidos a ZP fueron retirados por lavado y los fagos ligados fueron recuperados mediante incubación con un tampón de lisis. De forma similar se llevaron a cabo otras dos rondas de selección. La traducción de injertos de oligonucleótido ajeno en el ADN de fago reveló secuencias de los péptidos que eran responsables de la unión a ZP de ovocito porcino. Las secuencias de péptidos procedentes de la selección por presentación de fagos sobre ovocitos porcinos intactos rodeados de ZP se muestran en la Figura 5. Dichas secuencias de péptidos que se unen a ZP de ovocito porcino pueden ser específicas de especie o no. Por ejemplo, estas secuencias de péptido identificadas pueden unirse a regiones conservativas de glicoproteínas de ZP que son comunes a múltiples especies animales.

#### Ejemplo 2: Identificación de péptidos que se unen específicamente a ZP de ovocito porcino

El Experimento 2 se diseñó para identificar péptidos que se unen solamente a proteínas de ZP de ovocitos porcinos

(péptidos específicos de puerco). (Véase la Figura 4). Antes de la reacción con ovocitos porcinos, la biblioteca de péptidos de presentación de fagos PhD-12 se hizo reaccionar con ovocitos de especies no diana (ovocitos de gato, perro y vaca) que presentan una estrecha homología con los ovocitos porcinos en lo que respecta a las proteínas de ZP. (Véase Conner SJ, Lefievre L, Hughes DC, Barratt CL. Cracking the egg: increased complexity in the zona pellucida. Hum Reprod 2005; 20(5):1148-1152). Para cada una de estas etapas sustractivas de selección, se usaron 2000 ovocitos con ZP de cada una de las especies no diana. Las etapas de selección sustractivas fueron seguidas de tres rondas de selección con ovocitos porcinos (1000 ovocitos por cada ronda). En cada ronda, los fagos que expresan péptidos no ligados a ZP de ovocitos fueron retirados por lavado y los fagos ligados se recuperaron mediante incubación con tampón de lisis. La traducción de injertos de oligonucleótido ajenos en el ADN de fago reveló secuencias de los péptidos que eran responsables de la unión específica a proteínas de ZP sobre ovocitos porcinos. Las secuencias de péptido procedentes de la selección de presentación de fagos sobre ovocitos porcinos intactos rodeados de ZP se muestran en la Figura 6. Las secuencias de péptidos identificadas en el Experimento 2 son específicas de puerco. Un análisis comparativo indica que las secuencias de péptido mostradas en las Figuras 5 y 6 son diferentes (con la excepción del péptido de la SEQ ID NO: 2), lo que indica que los péptidos comunes para perro, gato, vaca y cerdo fueron eliminados en los procedimientos de pre-selección con ovocitos de perro, gato y vaca antes de las tres rondas de selección con ovocitos porcinos.

### Ejemplo 3: Composiciones de cebo dirigidas a jabalís

Los polipéptidos que comprenden o que consiste en los péptidos del Ejemplo 2 pueden formularse como composiciones de cebo específicas de especie dirigidas a jabalís. Alternativamente, los polinucleótidos que codifican los péptidos identificados en el Ejemplo 2 pueden formularse como composiciones de cebo específicas de especie dirigidas a jabalís. Opcionalmente, los polinucleótidos pueden insertarse en vectores víricos o vectores bacterianos específicos de especie dirigidos a jabalís, que posteriormente son formulados como composiciones de cebo específicas de especie dirigidas a jabalís.

La composición de cebo se formula para atraer jabalís y se formula para no atraer otras especies animales no diana (por ejemplo, aves). A la composición de cebo se le puede proporcionar sabor, color o aroma, con el objetivo de atraer selectivamente jabalís pero no atraer, o atraer solo mínimamente, a especies animales no diana (por ejemplo, aves u otras especies no diana). Los ingredientes que se pueden usar en la composición de cebo pueden incluir, aunque sin limitación, cereales o granos (por ejemplo, cebada), pescado (o aroma de pescado), carne (o aroma de carne), verduras (por ejemplo, patatas), frutas (por ejemplo, manzanas), productos lácteos (por ejemplo, leche o leche en polvo) y aceites (por ejemplo, aceites vegetales o aceite de pescado).

LISTA DE SECUENCIAS

- 5 <110> Auburn university  
 samoylova, Tatiana I.  
 Baker, Henry J.  
 Cox, Nancy  
 Ditchkoff, Stephen  
 10 Van Kampen, Kent
- <120> PÉPTIDOS DE UNIÓN A LA ZONA PELÚCIDA, VECTORES DE EXPRESIÓN, COMPOSICIONES Y  
 MÉTODOS PARA INMUNOCONTRACCIÓN ESPECÍFICA PARA CIERTAS ESPECIES DE ANIMALES
- 15 <130> 5171-00242  
 <150> US 61/123.275  
 <151> 2008-04-07
- 20 <150> US 61/130.473  
 <151> 2008-05-30  
 <150> US 61/133,201  
 <151> 2008-06-26
- 25 <160> 26  
 <170> PatentIn versión 3.5
- 30 <210> 1  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial
- 35 <220>  
 <223> Oligopéptido  
 <220>  
 <221> Oligopéptido  
 40 <222> (1)..(12)  
 <400> 1  
 Asp Ala Asp Asp Gln Thr His Arg Arg Phe Ser Met  
 1 5 10
- 45 <210> 2  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial
- 50 <220>  
 <223> Oligopéptido  
 <220>  
 <221> Oligopéptido  
 55 <222> (1)..(12)  
 <400> 2  
 Asp Ala Asn Arg Leu Pro His Pro Ala Asn Ile Asn  
 1 5 10
- 60 <210> 3  
 <211> 12

<212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 5 <220>  
 <223> Oligopéptido  
  
 <220>  
 <221> Oligopéptido  
 <222> (1)..(12)  
 10  
 <400> 3  
 Asp Leu Asn Gly His Lys Thr Leu Pro Val Ser Lys  
 1 5 10  
  
 15 <210> 4  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 20 <220>  
 <223> Oligopéptido  
  
 <220>  
 <221> Oligopéptido  
 <222> (1)..(12)  
 25  
 <400> 4  
 Asn Ile Gly Leu Pro His Asp Leu His Lys Arg Leu  
 1 5 10  
  
 30 <210> 5  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 35 <220>  
 <223> Oligopéptido  
  
 <220>  
 <221> Oligopéptido  
 <222> (1)..(12)  
 40  
 <400> 5  
 Asn Ile Gly Leu Pro His Asp Leu His Lys Arg Leu  
 1 5 10  
  
 45 <210> 6  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
  
 50 <220>  
 <223> Oligopéptido  
  
 <220>  
 <221> Oligopéptido  
 <222> (1)..(12)  
 55  
 <400> 6  
 Asn Ile Gly Leu Pro His Asp Leu His Lys Arg Leu  
 1 5 10  
  
 <210> 7

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

5 <220>  
 <223> Oligopéptido

<220>  
 <221> Oligopéptido  
 10 <222> (1)..(12)

<400> 7  
 Tyr Thr Val Ser Met Pro Asn Val Lys Asp Ala Ala  
 1 5 10

15 <210> 8  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> Oligopéptido

<220>  
 <221> Oligopéptido  
 25 <222> (1)..(12)

<400> 8  
 Asn Ile Gly Leu Pro His Asp Leu His Lys Arg Leu  
 1 5 10

30 <210> 9  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

35 <220>  
 <223> Oligopéptido

<220>  
 <221> Oligopéptido  
 40 <222> (1)..(12)

<400> 9  
 Gly Gln Ile Met Pro Leu Pro Thr Asn Leu Leu Val  
 1 5 10

45 <210> 10  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

50 <220>  
 <223> Oligopéptido

<220>  
 <221> Oligopéptido  
 55 <222> (1)..(12)

<400> 10  
 Ser Thr Thr Leu Pro Met Gly Ser Asn Ala His Leu  
 1 5 10

<210> 11  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 5 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> Oligopéptido  
  
 10 <220>  
 <221> Oligopéptido  
 <222> (1)..(12)  
  
 <400> 11  
 15 **Asn Ile Gly Leu Pro His Asp Leu His Lys Arg Leu**  
**1 5 10**  
  
 <210> 12  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 20 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> Oligopéptido  
  
 25 <220>  
 <221> Oligopéptido  
 <222> (1)..(12)  
  
 <400> 12  
 30 **Asn Ile Gly Leu Pro His Asp Leu His Lys Arg Leu**  
**1 5 10**  
  
 <210> 13  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 35 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> Oligopéptido  
  
 40 <220>  
 <221> Oligopéptido  
 <222> (1)..(12)  
  
 <400> 13  
 45 **Asp Xaa Asn Xaa Leu Pro His Xaa Xaa Xaa Xaa**  
**1 5 10**  
  
 <210> 14  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 50 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> Oligopéptido  
  
 55 <220>  
 <221> Oligopéptido  
 <222> (1)..(12)  
  
 60 <400> 14



Asn Ile Gly Leu Pro His Asp Leu His Lys Arg Leu  
 1 5 10

5 <210> 15  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Oligopéptido

15 <220>  
 <221> Oligopéptido  
 <222> (1)..(11)

20 <400> 15  
 Xaa Xaa Met Pro Asn Pro Val Xaa Xaa Ala Xaa  
 1 5 10

25 <210> 16  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30 <220>  
 <223> Oligopéptido

35 <220>  
 <221> Oligopéptido  
 <222> (1)..(11)

40 <400> 16  
 Xaa Gly Ser Xaa Xaa Thr Leu Pro Xaa Ser Xaa  
 1 5 10

45 <210> 17  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

50 <220>  
 <223> Oligopéptido

55 <220>  
 <221> Oligopéptido  
 <222> (1)..(12)

60 <400> 17  
 Gln Xaa Ala Xaa Xaa Xaa Pro Trp Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1 5 10

65 <210> 18  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

70 <220>  
 <223> Oligopéptido

75 <220>  
 <221> Oligopéptido  
 <222> (1)..(12)

<400> 18  
**Asn Ile Gly Leu Pro His Asp Leu His Lys Arg Leu**  
 1 5 10

5 <210> 19  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Oligopéptido

15 <220>  
 <221> Oligopéptido  
 <222> (1)..(12)

<400> 19  
**Asn Ile Gly Leu Pro His Asp Leu His Lys Arg Leu**  
 1 5 10

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

25 <220>  
 <223> Oligopéptido

30 <220>  
 <221> Oligopéptido  
 <222> (1)..(12)

<400> 20  
**Asn Ile Gly Leu Pro His Asp Leu His Lys Arg Leu**  
 1 5 10

35 <210> 21  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

40 <220>  
 <223> Oligopéptido

45 <220>  
 <221> Oligopéptido  
 <222> (1)..(12)

<400> 21  
**Ala Val Thr Gln His Leu Lys Phe Lys Gly Phe Asn**  
 1 5 10

50 <210> 22  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

55 <220>  
 <223> Oligopéptido

<220>  
 <221> Oligopéptido

<222> (1)..(12)

<400> 22  
**Ala Asn Phe Asn Met Thr His His Gln Gly His Lys**  
**1 5 10**

5

<210> 23  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10

<220>  
 <223> Oligopéptido

<220>  
 <221> Oligopéptido  
 <222> (1)..(12)

15

<400> 23  
**Asn Ile Gly Leu Pro His Asp Leu His Lys Arg Leu**  
**1 5 10**

20

<210> 24  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

25

<220>  
 <223> Oligopéptido

<220>  
 <221> Oligopéptido  
 <222> (1)..(12)

30

<400> 24  
**Xaa Xaa Asn Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Pro Ala Xaa Xaa**  
**1 5 10**

35

<210> 25  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

40

<220>  
 <223> Oligopéptido

<220>  
 <221> Oligopéptido  
 <222> (1)..(12)

45

<400> 25  
**Asn Ile Gly Leu Pro His Asp Leu His Lys Arg Leu**  
**1 5 10**

50

<210> 26  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

55

<220>  
 <223> Oligopéptido

<220>  
<221> Oligopéptido  
<222> (1)..(12)

5 <400> 26  
Asn Ile Gly Leu Pro His Asp Leu His Lys Arg Leu  
1 5 10

10

**REIVINDICACIONES**

- 1.- Un método para identificar un péptido que se une específicamente a la zona pelúcida de ovocitos de una especie animal diana, comprendiendo dicho método:
- 5 (a) poner en contacto ovocitos que han sido aislados a partir de la especie animal diana y ovocitos que han sido aislados a partir de una o más especies animales no diana con una biblioteca de fagos;
- (b) seleccionar fagos a partir de la biblioteca que se une específicamente a los ovocitos de la especie animal diana, identificando con ello péptidos que se unen a la zona pelúcida de ovocitos de la especie animal diana.
- 10 2.- El método de la reivindicación 1, en donde la biblioteca de fagos se pone en contacto en primer lugar con los ovocitos de una o más especies animales no diana, y posteriormente, los miembros de la biblioteca de fagos que no se unen a los ovocitos de la una o más especies animales no diana se ponen en contacto con los ovocitos de la especie animal diana y se seleccionan los miembros de la biblioteca de fagos que se unen a los ovocitos de la especie animal diana, identificando así péptidos que se unen específicamente a la zona pelúcida de ovocitos de la especie animal diana.
- 15 3.- El método de la reivindicación 1, en el que la biblioteca de fagos se pone en contacto en primer lugar con los ovocitos de las especies animales diana, y posteriormente, los miembros de la biblioteca de fagos que se unen a los ovocitos de las especies animales diana se ponen en contacto con los ovocitos de la una o más especies animales no diana y se seleccionan los miembros de la biblioteca de fagos que no se unen a los ovocitos de la una o más especies animales no diana, identificando así péptidos que se unen específicamente a la zona pelúcida de ovocitos de la especie animal diana.
- 20 4.- El método de la reivindicación 1, en el que la especie animal diana es un puerco.
- 5.- El método de la reivindicación 1, en el que las especies animales no diana incluyen uno o más felinos, caninos y bovinos.

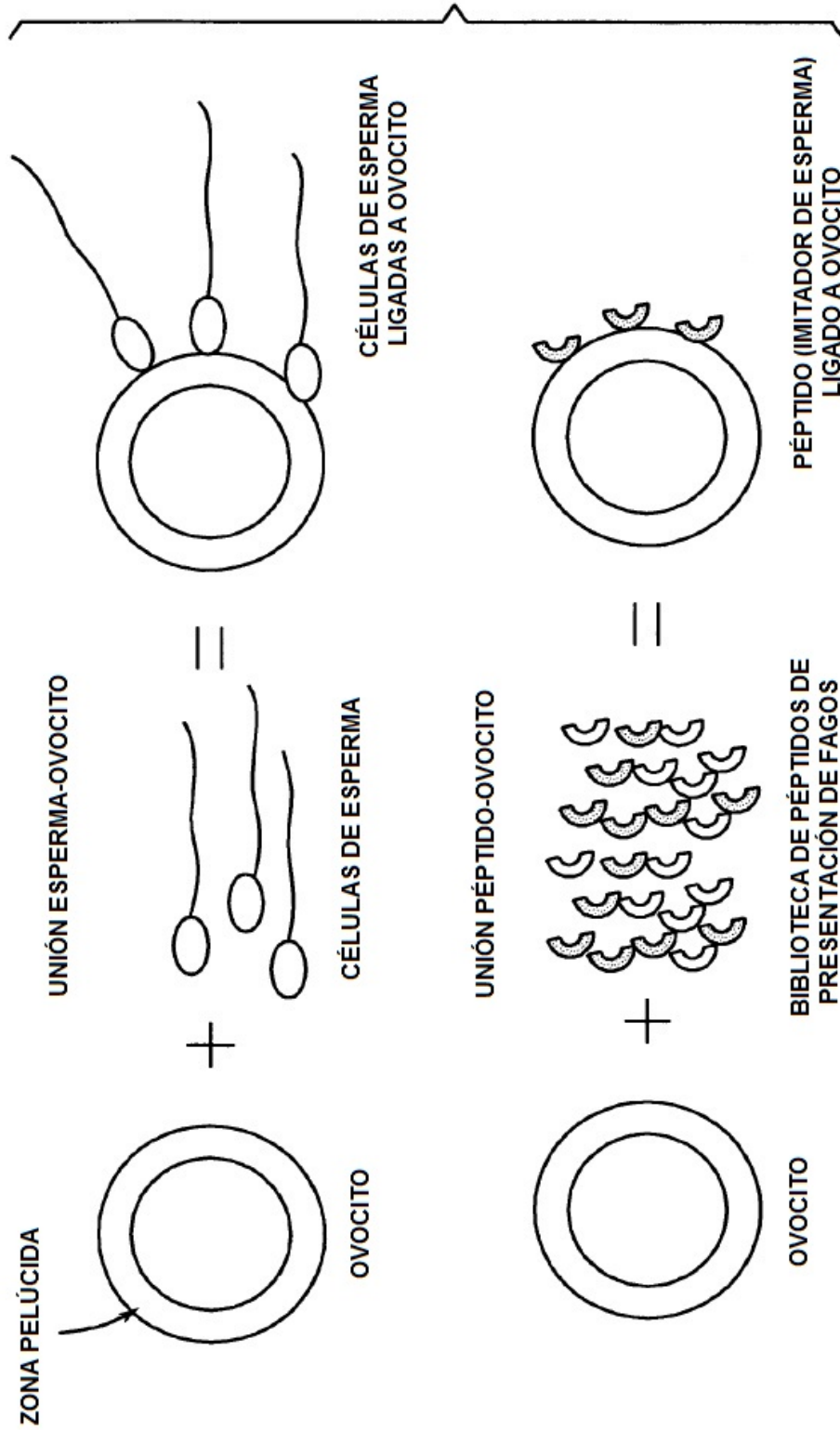
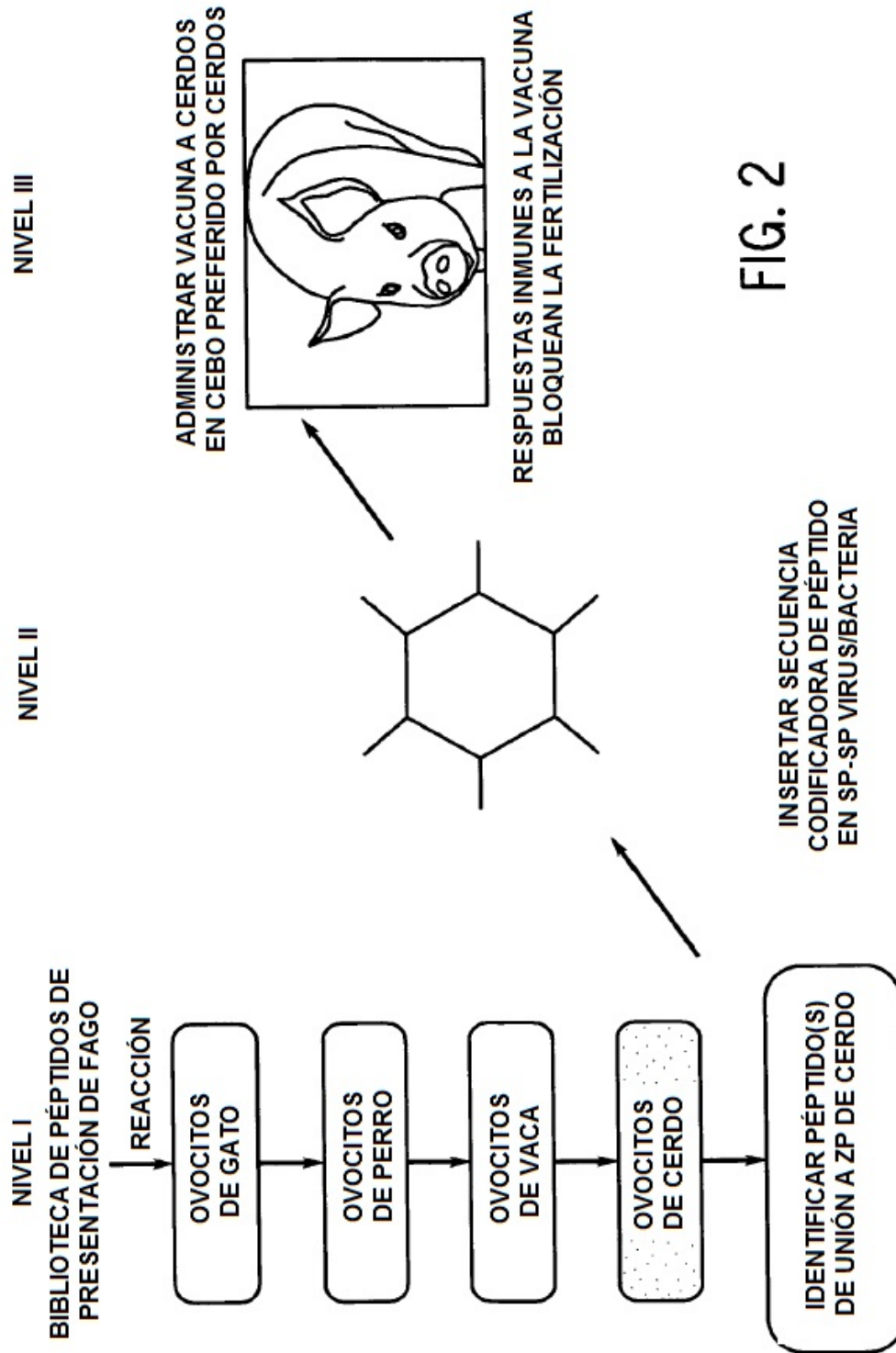


FIG. 1



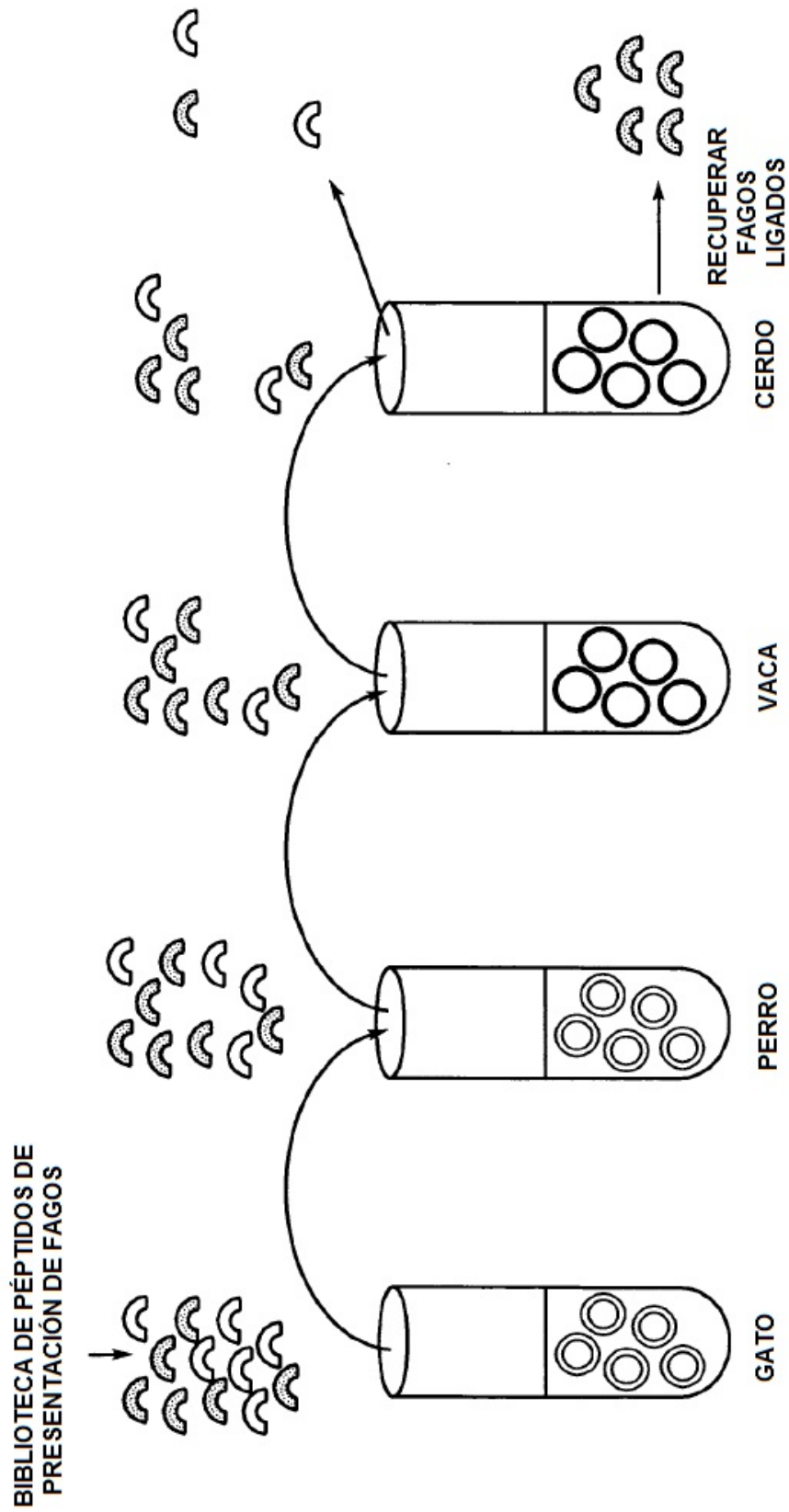


FIG. 3



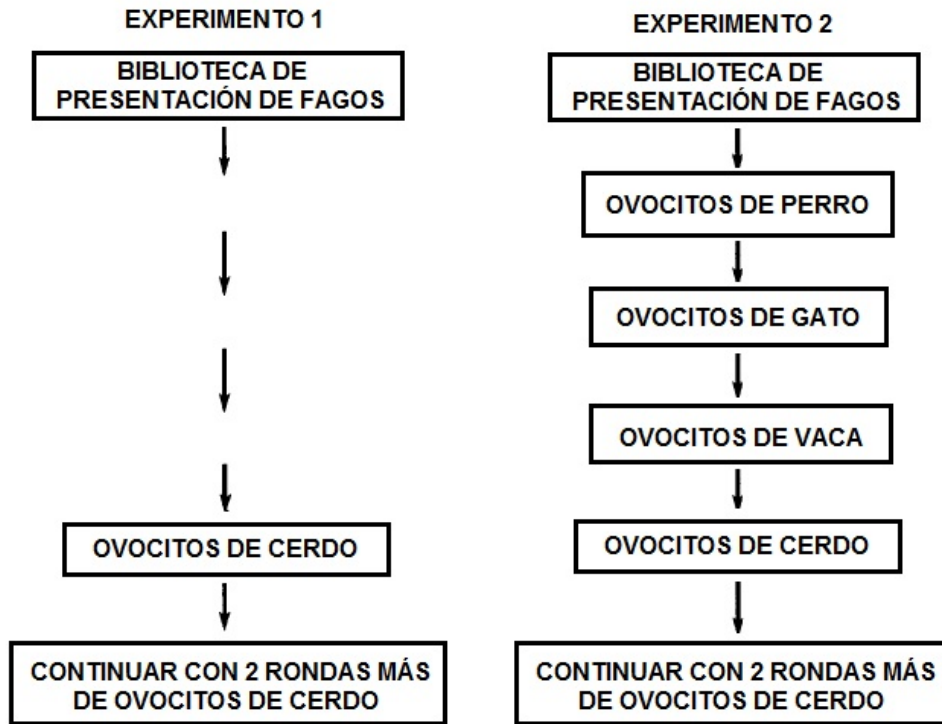


FIG. 4

## SECUENCIAS

SQ ID NO: 1 - daddqthrrfsm  
 SQ ID NO: 2 - danrlphpanin  
 SQ ID NO: 3 - dlngkhtlpvsk  
 SQ ID NO: 4 - niglphdlhkrl  
 SQ ID NO: 5 - ghnnlhattpe  
 SQ ID NO: 6 - qsaawypwsadh  
 SQ ID NO: 7 - ytvsmprvkdaa  
 SQ ID NO: 8 - ympnpftaskwk  
 SQ ID NO: 9 - gqimplptnlv  
 SQ ID NO: 10 - sttlpmgsnahl  
 SQ ID NO: 11 - tylkadsifsv

## ESTRUCTURAS

SQ ID NO: 12 - ttixtxsxxhxx  
 SQ ID NO: 13 - dxnxlphxxxx  
 SQ ID NO: 14 - xglxxxlhxtxp  
 SQ ID NO: 15 - xxmpn{p,v}xxax  
 SQ ID NO: 16 - x{g,s}xxtlpxsx  
 SQ ID NO: 17 - qxaxxxpwxxxx

FIG. 5

## **SECUENCIAS**

SEQ ID NO: 2 - danrlphpanin  
SEQ ID NO: 18 - tlgwtaneaprr  
SEQ ID NO: 19 - lladtthhrpwt  
SEQ ID NO: 20 - sqspamysqtrp  
SEQ ID NO: 21 - avtqhikfkgfn  
SEQ ID NO: 22 - anfnmthhghk

## **ESTRUCTURAS**

SEQ ID NO: 23 - xttthxxxxxx  
SEQ ID NO: 24 - xxnxxlxxpaxx  
SEQ ID NO: 25 - xxaxxxxxrpxx  
SEQ ID NO: 26 - xxssxxsasxxx

**FIG. 6**