(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 545 458**

(51) Int. Cl.:

A61K 39/00 (2006.01)
C07K 7/08 (2006.01)
C07K 16/18 (2006.01)
A61K 38/10 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.06.2012 E 12729449 (4)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.07.2015 EP 2717908**

(54) Título: **Fragmentos de PTEC**

(30) Prioridad:

10.06.2011 EP 11169481

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.09.2015

(73) Titular/es:

AFFIRIS AG (100.0%)
Karl-Farkas-Gasse 22
1030 Wien, AT

(72) Inventor/es:

BRUNNER, SYLVIA;
GEBHART, MATHIAS;
BILCIKOVA, ERIKA;
JUNO, CLAUDIA;
LINZMAYER-HIRT, POLA y
SCHUH, BIRGIT

(74) Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 545 458 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

Fragmentos de PTEC.

La presente invención se refiere a péptidos que pueden influir sobre la actividad *in vivo* de la PTEC.

Las enfermedades asociadas a la ateroesclerosis, tales como las enfermedades cardiovasculares (ECV), así como el ictus y la enfermedad de oclusión arterial periférica, son algunas de las causas principales de muerte en los Estados Unidos, Europa y en grandes zonas de Asia. Respecto al año 1990, la mortalidad por ECV se habrá incrementado en 90% para 2020.

Se consideran diversos factores de riesgo como responsables de la formación de las lesiones ateroescleróticas. Los perfiles de lipoproteínas circulantes, la hipertensión arterial y el abuso de la nicotina son particularmente significativos a este respecto.

En algunos estudios epidemiológicos detallados se ha descubierto una correlación positiva entre el nivel de colesterol en suero y la incidencia de enfermedad cardiaca coronaria. Los niveles elevados de lipoproteína de baja densidad-colesterol (LCLc) comportan un riesgo cardiovascular elevado y se correlacionan directamente con un riesgo incrementado de ateroesclerosis. Se utilizan comúnmente las estatinas, tales como los inhibidores de la HMG-CoA reductasa, las cuales consiguen reducir los niveles circulantes de LDLc. Sin embargo, a pesar de la reducción de los sucesos coronarios gracias al tratamiento agresivo con estatinas, el considerable riesgo cardiovascular residual sigue constituyendo un reto. De esta manera, se necesitan urgentemente nuevos terapéuticos.

Además del nivel de LDL-colesterol, el nivel de la lipoproteína de alta densidad-colesterol (HDLc) vasoprotectora desempeña un papel importante en la estimación del perfil de riesgo de enfermedad cardiovascular. Los estudios epidemiológicos han demostrado una relación inversa entre los niveles de HDLc y la ateroesclerosis. Los niveles de HDLc son factores predictivos fuertes independientes de los valores de LDLc. Por lo tanto se considera que los niveles de HDLc presentan efectos ateroprotectores. Por lo tanto, la elevación de los niveles de HDLc es un objetivo importante y una diana adicional.

La monoterapia con estatinas no eleva eficazmente los niveles de HDLc y el tratamiento y la prevención de la ateroesclerosis con este tipo de compuesto farmacológico no resulta suficiente. Las opciones actuales para elevar los niveles de HDLc son los fibratos y la niacina. Resulta especialmente eficaz la niacina; sin embargo, su uso se encuentra limitado por efectos adversos que llevan a un bajo cumplimiento por parte del paciente. Se requiere urgentemente un método eficaz y seguro para elevar los niveles de HDLc complementario a la reducción de LDL con estatinas. A este respecto la inhibición de PTEC como monoterapia o como terapia adyuvante resulta un objetivo atractivo.

La proteína de transferencia de ésteres de colesterol (PTEC) es una glucoproteína plasmática que es responsable de la transferencia de lípidos neutros, incluyendo el éster de colesterilo y los triglicéridos (TG), entre lipoproteínas. Los ésteres de colesterilo procedentes de los HDL ateroprotectores son transferidos a la lipoproteína apolipoproteína (apo) B pro-aterogénica (LDL y VLDL) en intercambio por TG. Esto conduce a niveles más bajos de HDL y eleva los niveles de LDL y VLDL.

Se considera que la PTEC, muy probablemente dependiente del nivel basal metabólico, es una diana terapéutica valiosa para el objetivo de incrementar el nivel plasmático de HDL.

Muchas especies no presentan PTEC. En especies con susceptibilidad a la ateroesclerosis, tales como el conejo y el ser humano, la actividad de la PTEC es elevada. Otras especies que son resistentes a la aterosclerosis no poseen PTEC y presentan niveles elevados de HDLc.

En experimentos animales con conejos y hámsters, la inhibición transitoria de PTEC con anticuerpos monoclonales anti-PTEC, oligonucleótidos antisentido o inhibidores de PTEC ha conducido a un incremento de los niveles de HLD.

Se han descrito varias clases de inhibidores de PTEC, algunos de los cuales ya se encuentran en ensayo clínico avanzado (por ejemplo el dalcetrapib (Stein E.A., Eur. Heart J. 31(4):480-8, 2010), el anacetrapib (Cannon C.P., N. Engl. J. Med. 363(25):2406-15, 2010) y el torcetrapib (Nissen S.E., N. Engl. J. Med. 356(13):1304-16, 2007)).

En la patente US nº 5.512.548 y en el documento WO 93/011782, se han descrito polipéptidos y análogos de los mismos que pueden inhibir la PTEC, que cataliza la transferencia de ésteres de colesterol de HDL a VLDL y LDL y, por lo tanto, presentan actividad anti-ateroesclerótica en caso de administrarse en un paciente. Según dichos documentos, dicho inhibidor de polipéptido PTEC deriva de apoC-I de diverso origen, en el que especialmente los fragmentos N-terminales hasta el aminoácido nº 36 han sido identificados como inhibidores de la PTEC.

También en el documento US 5.880.095 A, se da a conocer un péptido de unión a PTEC que es capaz de inhibir la

actividad de PTEC en un individuo. La proteína inhibidora de PTEC comprende un fragmento N-terminal de apoC-III porcino.

En los documentos US 2006/0276400 y WO 96/034888 se dan a conocer péptidos que se derivan de PTEC y que comprenden epítopos de células T y/o de células B. Estos péptidos son capaces de inducir *in vivo* la formación de anticuerpos específicos de PTEC.

En los documentos US 2004/0087481 y US nº 6.410.022 B1, se dan a conocer péptidos que, debido a la inducción de una respuesta inmunitaria específica de PTEC, pueden utilizarse para el tratamiento y la prevención de enfermedades cardiovasculares, tales como, por ejemplo, la ateroesclerosis. Estos péptidos comprenden un epítopo de células T ayudantes que no deriva de PTEC y por lo menos un epítopo de células B que procede de PTEC y puede derivar directamente de ésta última. El epítopo de las células T ayudantes deriva ventajosamente del toxoide tetánico y se une covalentemente a por lo menos un epítopo de células B de la PTEC. Mediante la utilización de un epítopo de las células T ayudantes que es extraño al organismo, resulta posible inducir anticuerpos en el cuerpo de un individuo que están dirigidos contra aquella parte peptídica que consiste en por lo menos un epítopo de célula B de PTEC.

En el documento WO 2006/029982 se describen mimótopos de PTEC que deben utilizarse para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento o a la prevención de la aterosclerosis.

Ya se han realizado propuestas para un enfoque de vacuna para la PTEC. Se han tratado conejos con una vacuna que contiene un péptido derivado del extremo C de la PTEC como antígeno. Los conejos inmunizados presentaban una actividad de PTEC reducida y niveles de lipoproteínas alterados con valores incrementados de HDL y reducidos de LDL. Además, los animales de ensayo tratados del modelo de ateroesclerosis también mostraron lesiones ateroscleróticas reducidas en comparación con los animales de control (Rittershaus C.W., Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 20:2106-12, 2000).

Los resultados de un estudio clínico de fase II con la vacuna CETi-1, llevado a cabo por la compañía biotecnológica americana Avant, han sido publicados (BioCentury Extra del miércoles, 22 de octubre de 2003). En este estudio de fase II, tal como en el estudio precedente de fase I, se demostró un perfil de seguridad muy bueno sin ningún efecto secundario cuestionable, permitiendo extraer la conclusión de que no se esperan efectos secundarios de un enfoque de vacunación con anti-PTEC. Sin embargo, con respecto a la eficacia, la vacuna de Avant resultó decepcionante, ya que no condujo a niveles incrementados de HDL significativamente superiores a los alcanzados con un tratamiento de placebo.

Un objetivo de la presente invención consiste en proporcionar unos medios y procedimientos para reducir la actividad de la PTEC en un individuo.

La presente invención se refiere a un péptido que consiste en 6 a 20 residuos aminoácidos y que deriva de la secuencia de aminoácidos VFKGTLKYGYTTAWWLGIDQSIDFEIDSAI (SEC ID nº 23), en el que dicho péptido comprende la secuencia de aminoácidos WWLGID (SEC ID nº 24).

Inesperadamente ha resultado que los péptidos que comprenden la secuencia de aminoácidos WWLGID son capaces de inducir en un mamífero, en particular en el ratón, anticuerpos dirigidos contra PTEC. Estos anticuerpos son capaces de unirse a la PTEC y además reducen la actividad de dicha proteína. Es bien conocido que en mamíferos con actividad de PTEC, la reducción de esta actividad mediante, por ejemplo, vacunación (Thomas *et al.*, Human Vaccines 5:79-84, 2009) o inhibidores de molécula pequeña (Luscher *et al.*, Eur. Heart J. 33:857-865, 2012; Krauss *et al.*, J. Lipid Res. 53:540-547, 2012) conduce a un incremento de los niveles de HDL. El incremento de los niveles de HLD en un mamífero conduce a un alivio de la ateroesclerosis y otras enfermedades asociadas a la ateroesclerosis, en particular enfermedades cardiovasculares.

Los péptidos de la presente invención que comprenden la secuencia de aminoácidos WWLGID derivan del péptido que presenta la secuencia de aminoácidos VFKGTLKYGYTTAWWLGIDQSIDFEIDSAI (SEC ID nº 23), que es un fragmento de la PTEC humana (nº de acceso de la Protein Data Bank 2OBD_A GI:126031487). El péptido que presenta la secuencia de aminoácidos SEC ID nº 23 comprende los residuos aminoácidos 92 a 121 de la proteína PTEC madura. Este fragmento de proteína PTEC y variantes truncadas de la misma que comprenden la secuencia de aminoácidos WWLGID inducen, tal como se ha indicado anteriormente, la formación de anticuerpos que se unen específicamente a PTEC. Sin embargo, otros fragmentos derivados de la PTEC, incluyendo los residuos aminoácidos 47 a 55, 152 a 165, 290 a 300, 300 a 316 y 403 a 415 de la proteína PTEC madura, aunque presentes sobre la superficie de la proteína PTEC de longitud completa, no conducen a la formación de anticuerpos dirigidos (es decir, ligantes de) a la proteína PTEC, aunque la administración de dichos fragmentos en un mamífero induce la formación de anticuerpos específicos de fragmento. Esto resulta inesperado ya que el experto en la materia esperaría evidentemente que los fragmentos de la PTEC expuestos sobre la superficie de la proteína PTEC resultarían necesarios para inducir la formación de anticuerpos dirigidos contra la proteína PTEC.

Es bien conocido en la técnica que los péptidos de mayor longitud muestran una probabilidad más alta de

comprender uno o más epítopos de células T que no se desean en dicha vacuna. La activación de los epítopos de las células T citotóxicas (CD4 y CD8) podría conducir a la inducción de células T autorreactivas, induciendo sucesos adversos (SA) no deseados. Por lo tanto, el experto en la materia, con el fin de evitar epítopos no deseados en una vacuna, utilizaría péptidos como antígenos tan cortos como resulte posible con el fin de inducir una respuesta inmunitaria humoral específica de antígeno. Por lo tanto, los péptidos más cortos, aparte del hecho de que los péptidos más cortos pueden sintetizarse químicamente de manera mucho más sencilla, resultan preferidos.

En el documento WO 02/098915, se dan a conocer polipéptidos de menos de 100 aminoácidos que comprenden la secuencia de aminoácidos SEC ID nº 23 de la presente invención. Los polipéptidos del documento WO 02/098915 se utilizan para producir anticuerpos dirigidos contra la PTEC. Debido a la longitud de los péptidos dados a conocer en el documento WO 02/098915, también se inducen anticuerpos que podrían no resultar útiles para tratar o prevenir la ateroesclerosis y enfermedades asociadas a la ateroesclerosis debido a que dichos anticuerpos podrían ser específicos de partes de PTEC no relevantes a su modo de acción.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "péptido" se refiere a una molécula polimérica que presenta por lo menos 6 residuos aminoácidos que se encuentran unidos entre sí mediante enlaces peptídicos.

La expresión "derivados de", tal como se utiliza en el contexto de los péptidos de la presente invención, se refiere a que los péptidos de la presente invención son fragmentos del péptido con la secuencia de aminoácidos SEC ID nº 23. Por lo tanto, la expresión "derivado de" puede utilizarse intercambiablemente con "siendo un fragmento de".

Según una forma de realización preferida de la presente invención, el péptido que consiste en 6 a 20 residuos aminoácidos y que deriva de la secuencia de aminoácidos VFKGTLKYGYTTAWWLGIDQSIDFEIDSAI (SEC ID nº 23) puede comprender o consistir en 6 a 16 residuos aminoácidos.

Según una forma de realización particularmente preferida de la presente invención, el péptido comprende entre 8 y 20, preferentemente entre 8 y 16 residuos aminoácidos. En el caso de que los péptidos de la presente invención comprendan un residuo de cisteína C-terminal y/o N-terminal, el péptido puede comprender entre 9 y 21, preferentemente entre 9 y 17, o entre 10 y 22, preferentemente entre 10 y 18 residuos aminoácidos.

En el caso de que el péptido de la presente invención comprenda por lo menos 8 residuos aminoácidos consecutivos de la secuencia de aminoácidos SEC ID nº 23, dicho péptido preferentemente comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos SEC ID nº 10, SEC ID nº 11, SEC ID nº 18 y/o SEC ID nº 19.

Según otra forma de realización preferida de la presente invención, la secuencia de aminoácidos del péptido se selecciona de entre el grupo que consiste en YTTAWWLGIDQS (SEC ID nº 1), YGYTTAWWLGIDQSID (SEC ID nº 7), TTAWWLGIDQS (SEC ID nº 8), TAWWLGIDQS (SEC ID nº 9), AWWLGIDQS (SEC ID nº 10), WWLGIDQS (SEC ID nº 11), YTTAWWLGIDQ (SEC ID nº 13), YTTAWWLGID (SEC ID nº 14), TTAWWLGIDQ (SEC ID nº 18) y TTAWWLGID (SEC ID nº 19), particularmente preferentemente de entre el grupo que consiste en TAWWLGIDQS (SEC ID nº 9), AWWLGIDQS (SEC ID nº 10) y WWLGIDQS (SEC ID nº 11).

Los péptidos de la presente invención pueden sintetizarse químicamente mediante métodos que son bien conocidos en la técnica. Evidentemente también resulta posible producir los péptidos de la presente invención utilizando métodos recombinantes. Los péptidos pueden producirse en microorganismos tales como bacterias, levaduras u hongos, en células eucarióticas tales como células de mamífero o de insecto, o en un vector vírico recombinante, tal como adenovirus, poxvirus, herpesvirus, virus del Bosque Simliki, baculovirus, bacteriófagos, virus Sindbi o virus Sendai. Entre las bacterias adecuadas para producir los péptidos se incluyen *E. coli, B. subtilis* o cualquier otra bacteria que pueda expresar dichos péptidos. Entre las células de levadura adecuadas para expresar los péptidos de la presente invención se incluyen *Saccharomyces cerevisiae, Schizosaccharomyces pombe, Candida*, *Pichia pastoris* o cualquier otra levadura capaz de expresar péptidos. Los medios y métodos correspondientes son bien conocidos en la técnica. También los métodos de aislamiento y purificación de los péptidos producidos recombinantemente son bien conocidos en la técnica y entre ellos se incluyen, por ejemplo, la filtración en gel, la cromatografía de afinidad, la cromatografía de intercambio iónico, etc.

Para facilitar el aislamiento de los péptidos de la presente invención pueden prepararse polipéptidos de fusión en los que los péptidos se fusionan traduccionalmente (se unen covalentemente) a un polipéptido heterólogo que permite el aislamiento mediante cromatografía de afinidad. Los polipéptidos heterólogos típicos son la etiqueta de His (por ejemplo His6, 6 residuos de histidina), la etiqueta GST (glutatión-S-transferasa), etc. El polipéptido de fusión facilita no sólo la purificación de los péptidos sino que también puede evitar la degradación de los péptidos durante las etapas de purificación. Si se desea eliminar el polipéptido heterólogo tras la purificación, el polipéptido de fusión puede comprender un sitio de corte en la unión entre el péptido y el polipéptido heterólogo. El sitio de corte puede consistir en una secuencia de aminoácidos que se corta con un enzima específico para la secuencia de aminoácidos en el sitio (por ejemplo proteasas).

Los péptidos de la presente invención también pueden comprender en su extremo N y/o C un residuo de cisteína unido al mismo.

La provisión de un residuo de cisteína en el extremo N y/o C-terminal de un péptido puede facilitar su conjugación con un vehículo y/o incrementar la inmunogenicidad del péptido. En el caso de que se añada un residuo de cisteína al extremo C y/o N de los péptidos de la presente invención, el número de residuos aminoácidos indicado en la presente memoria se incrementa evidentemente en 1 o 2 residuos aminoácidos. Por lo tanto, el péptido que consiste en 6 a 20 residuos aminoácidos y que deriva de la secuencia de aminoácidos VFKGTLKYGYTTAWWLGIDQSIDFEIDSAI (SEC ID nº 23), en la que dicho péptido comprende la secuencia de aminoácidos WWLGID (SEC ID nº 24), puede consistir de 7 a 21 u 8 a 22 residuos aminoácidos.

Los péptidos particularmente preferidos de la presente invención que presentan un residuo de cisteína C-terminal o N-terminal se seleccionan de entre el grupo que consiste en C-YTTAWWLGIDQS, C-YGYTTAWWLGIDQSID, C-TTAWWLGIDQS, C-TAWWLGIDQS, C-AWWLGIDQS, C-WWLGIDQS, C-YTTAWWLGIDQ, C-YTTAWWLGID, C-TTAWWLGIDQ y TTAWWLGID-C.

Según una forma de realización preferida de la presente invención, el péptido se utiliza para prevenir y/o tratar la ateroesclerosis y enfermedades asociadas a la ateroesclerosis.

Tal como se ha indicado de manera general anteriormente, los péptidos de la presente invención son capaces de inducir la formación de anticuerpos que son capaces de unirse específicamente a PTEC particularmente presentes en el ser humano. La unión de estos anticuerpos a PETC conduce a una reducción de la actividad *in vivo* de la PTEC. Como consecuencia de ella se incrementa el nivel de HDL.

La enfermedad asociada a la ateroesclerosis preferentemente se selecciona de entre el grupo que consiste en enfermedad oclusiva arterial periférica, enfermedad cardiaca coronaria, ictus y traumatismo cerebral apopléctico.

La expresión "enfermedades asociadas a ateroesclerosis" se refiere a enfermedades que son una consecuencia de la ateroesclerosis. Entre estas enfermedades se incluyen entre otras la enfermedad oclusiva arterial periférica, la enfermedad cardiaca coronaria y el traumatismo cerebral apopléctico (ver, por ejemplo, Steinberg D., J. Lipid Res. 46:179-190, 2005; Steinberg D. *et al.*, J. Lipid Res. 47:1339-1351, 2006).

Según una forma de realización preferida de la presente invención el péptido se administra en un individuo en una cantidad de entre 0,5 y 500 µg, preferentemente de entre 1 y 100 µg, por cada inmunización. Sin embargo, el péptido de la presente invención puede administrarse alternativamente en un individuo en una cantidad de entre 0,1 ng y 10 mg, preferentemente de entre 10 ng y 1 mg, en particular de entre 100 ng y 300 µg/kg de peso corporal.

La cantidad de péptidos que puede combinarse con los materiales portadores para producir una única forma de dosificación variará dependiendo del huésped tratado y del modo de administración particular. La dosis de la vacuna puede variar según factores tales como el estado de enfermedad, la edad, el sexo y el peso del individuo, y la capacidad del anticuerpo de inducir una respuesta deseada en el individuo. El régimen de administración puede ajustarse para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. Por ejemplo, pueden administrarse varias dosis divididas diariamente o la dosis puede reducirse proporcionalmente tal como indiquen las exigencias de la situación terapéutica. la dosis de la vacuna también puede modificarse para proporcionar una respuesta a la dosis preventiva óptima según las circunstancias. Por ejemplo, los péptidos y la vacuna de la presente invención pueden administrarse en un individuo a intervalos de varios días, de una o dos semanas o incluso de meses, en todo caso dependiendo del nivel de anticuerpos dirigidos contra la PTEC.

En una forma de realización preferida de la presente invención, el péptido/vacuna se aplica entre 2 y 10 veces, preferentemente entre 2 y 7, más preferentemente hasta 5 y todavía más preferentemente hasta 3 veces. En una forma de realización particularmente preferida, el intervalo de tiempo entre las vacunaciones posteriores se selecciona de entre 2 semanas y 5 años o más, preferentemente entre 1 mes y hasta 3 años, más preferentemente entre 2 meses y 1,5 años. La administración repetida del péptido/vacuna de la presente invención puede maximizar el efecto final de una vacunación terapéutica.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a una vacuna que comprende por lo menos un péptido tal como se ha definido anteriormente que comprende entre 6 y 30 residuos aminoácidos y que deriva de la secuencia de aminoácidos VFKGTLKYGYTTAWWLGIDQSIDFEIDSAI (SEC ID nº 23), en la que dicho péptido comprende la secuencia de aminoácidos WWLGID (SEC ID nº 24).

La vacuna de la presente invención puede comprender uno o más, preferentemente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 de los péptidos seleccionados de entre el grupo que consiste en YTTAWWLGIDQS (SEC ID nº 1), YGYTTAWWLGIDQSID (SEC ID nº 7), TTAWWLGIDQS (SEC ID nº 8), TAWWLGIDQS (SEC ID nº 9), AWWLGIDQS (SEC ID nº 10), WWLGIDQS (SEC ID nº 11), YTTAWWLGIDQ (SEC ID nº 13), YTTAWWLGID (SEC IDS nº 14), TTAWWLGIDQ (SEC ID nº 18) y TTAWWLGID (SEC ID nº 19).

Entre las combinaciones particularmente preferidas de péptidos se incluyen: SEC ID nº 10 y nº 11, SEC ID nº 8 y nº 9, SEC ID nº 8 y nº 10, SEC ID nº 8 y nº 11, SEC ID nº 9 y nº 10, SEC ID nº 9 y nº 11, SEC ID nº 8, nº 9 y nº 10, SEC

ID nº 8, nº 9 y nº 11, SEC ID nº 8, nº 9, nº 10 y nº 11, SEC ID nº 10, nº 11 y nº 18, SEC ID nº 8, nº 9 y nº 18, SEC ID nº 8, nº 10 y nº 18, SEC ID nº 8, nº 11 y nº 18, SEC ID nº 9, nº 10 y nº 18, SEC ID nº 9, nº 11 y nº 18, SEC ID nº 8, nº 9, nº 10 y nº 18, SEC ID nº 8, nº 9, nº 11 y nº 18, SEC ID nº 8, nº 9, nº 10, nº 11 y nº 18, SEC ID nº 8 y nº 18, SEC ID nº 9 y nº 18, SEC ID nº 10 y nº 18, SEC ID nº 11 y nº 18.

La vacuna de la presente invención puede comprender además otros fragmentos peptídicos de PTEC o variantes de la misma o cualesquiera otros péptidos que sean capaces de inducir la formación *in vivo* de anticuerpos dirigidos contra PTEC, particularmente la PTEC humana. Resultan particularmente adecuados los péptidos dados a conocer en el documento WO 2009/021254. Los péptidos dados a conocer en el mismo presentan la secuencia de aminoácidos $FX_8(F)_oPX_9HX_{10}X_{11}X_{12}DX_2X_3X_4X_5X_6X_7$, en la que X_8 se selecciona de entre el grupo que consiste en G, A, F, Y y K, X_9 se selecciona de entre el grupo que consiste en E, Y, A, Q, K y S, X_{10} se selecciona de entre el grupo que consiste en H, V, L, F e I, X_{11} se selecciona de entre el grupo que consiste en L, W, S, I, F e Y, X_{12} es V, T, F o I, X_2 es un residuo aminoácido seleccionado de entre el grupo que consiste en F, A, W, R, S, L, Q, V y M, X_3 es un residuo aminoácido seleccionado de entre el grupo que consiste en L, A, S, W, E, R, I y H, X_4 es un residuo aminoácido seleccionado de entre el grupo que consiste en Q, A, H, D, K, R, S y E, X_5 es S o Y, X_6 es L, A o I, X_7 es S, N o T, y o es 0 o 1. Las combinaciones preferidas comprenden los péptidos de la presente invención y uno o más péptidos seleccionados de entre el grupo que consiste en FGFPEHLLVDFLQSLS, FPEHLLVDFLQSL, AGFPEHLLVDFLQSLS, FAFPEHLLVDFLQSLS, FGAPEHLLVDFLQSLS, FGFAEHLLVDFLQSLS, LLVDFLQSLS, FGFPAHLLVDFLQSLS, FGFPEALLVDFLQSLS, FGFPEHALVDFLQSLS, FGFPEHLAVDFLQSLS, FGFPEHLLADFLQSLS, FGFPEHLLVAFLQSLS, FGFPEHLLVDALQSLS, FGFPEHLLVDFAQSLS, FGFPEHLLVDFLASLS, FGFPEHLLVDFLQALS, FGFPEHLLVDFLQSAS, FGFPEHLLVDFLQSLA, FAFPAHLLVDFLQALA, FGFPGHLIWDSLHSLS,FGFPYHHLVDQLHSLS, FGFPYHVQVDVLQSLS, FGFPSHHLQDSLQSLS, FGFPLHFRSDRIQSLS, FGFPKHLYADMSQSLS, FGFPAHLSRDLRQSLS, FGFPFHFAQDSWQSLS, FGFPQHLTTDRAQSLS, FGFPQHLTTDWAQSLS, FGFPQHLTTDRLQSLS, FGFPQHLTTDWLQSLS, ATPSHLIIDRAQ, ATPSHLIIDRAQSLS, FGFPSHLIIDRAQSLS, FGFPSHLIIDWAQSLS, FGFPSHLIIDWLQSLS, FGFPSHLIIDWSQSLS, FAFPAHVSIDWLQSLS, FGFPAHVSIDWLQLLS, FGFPAHVSIDWLQWLS, FGFPAHVSIDWLQNLS, FGFPAHVSIDWLQTLS, FGFPAHVSIDWLQYLS, FGFPAHVSIDWLQSIS, FGFPAHVSIDWLQSLT, FGFPAHVSIDWLQSLY, FAFPAHVSIDWLQALA, FGFPAHVSIDRAQSLS, FGFPTHVSIDWLQSLS, FGFPFHVSIDWLQSLS, FGFPAHISIDWLQSLS, FGFPAHIIIDWLQSLS, FGFPAHLTTDWLQSLS, FGFPAHVFIDWLQSLS, FGFPAHVYIDWLQSLS, FGFPAHVSLDWLQSLS, FGFPAHVSADWLQSLS, FGFPAHVWIDWLQSLS, FGFPAHVFIDWLQSLN, FGFPAHFSIDWLQSLS, FGFPAHVSFDWLQSLS, FGFPEHVFIDWLQSLS, FGFPQHLFTDWLQSLS, FGFPKHLLVDFLQSLS, FGFPAHVSIDWSQSLS, FGFPAHVSIDFSQSLS, FGFPSHIIIDWLQSLS, FGFPSHLIIEWLQSLS, FAFPAHVFIDWLQSLS, FGFPAHVFIDWLQALS, FGFPAHVFIDWLQSLA, FAFPAHVFIDWLQALA, FGFPEHLFVDFLQSLS, FGFPAHVHIDWLQSLS, FGFPAHVPIDWLQSLS, FGFPSHLFIDWAQSLS, FGFPAHVYIDWLQ y FGFPAHVFIDWLQ.

La vacuna de la presente invención puede comprender además antígenos derivados de otras proteínas que también participan en la regulación de los niveles de LDL y/o HDL en el cuerpo humano. Por ejemplo, los fragmentos de la PTEC de la presente invención pueden combinarse con epítopos derivados de PCSK9 (proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9), tal como se da a conocer en los documentos WO 2008/125623, WO 2010/057242 y WO 2011/027257.

Según una forma de realización preferida de la presente invención, el péptido o péptidos se acoplan o se fusionan con un vehículo farmacéuticamente aceptable, preferentemente KLH (hemocianina de lapa californiana).

Según una forma de realización preferida de la presente invención, el péptido se acopla o se fusiona con un vehículo farmacéuticamente aceptable, preferentemente KLH (hemocianina de lapa californiana), toxoide tetánico, proteína de unión a albúmina, antígeno nuclear de la hepatitis B, albúmina de suero bovino, un dendrímero (MAP), conectores peptídicos (o regiones flanqueantes) o CRM, preferentemente CRM197, así como en combinación con sustancias adyuvantes indicadas en Singh *et al.*, Nat. Biotech. 17:1075-1081, 1999 (en particular los indicados en la Tabla 1 de dicho documento) y O'Hagan *et al.*, Nature Reviews, Drug Discovery 2(9):727-735, 2003 (en particular, los compuestos inmunopotenciadores y sistemas de administración endógenos descritos en ella), o mezclas de los mismos. La química de conjugación (por ejemplo mediante compuestos heterobifuncionales tales como GMBS y

evidentemente también otros, tal como se indica en "Bioconjugate Techniques", Greg T. Hermanson) en el presente contexto pueden seleccionarse de entre reacciones conocidas por el experto en la materia. Además, la composición de vacuna puede formularse con un adyuvante, preferentemente una composición de aluminio de baja solubilidad, en particular hidróxido de aluminio. Evidentemente pueden utilizarse también adyuvantes como fosfato de aluminio MF59, fosfato de calcio, citocinas (por ejemplo IL-2, IL-12, GM-CSF), saponinas (por ejemplo QS21), derivados de MDP, oligonucleótidos CpG, LPS, MPL, polifosfacenos, emulsiones (por ejemplo de Freund, SAF), liposomas, lipopéptidos, virosomas, iscomas, cocleatos, micropartículas de PLG, partículas de poloxámero, partículas de tipo vírico, enterotoxina termolábil (ET), toxina del cólera (TC), toxinas mutantes (por ejemplo LTK63 y LTR72), micropartículas y/o liposomas polimerizados.

Los péptidos de la presente invención preferentemente se unen al vehículo o adyuvante mediante un conector, que se selecciona de entre el grupo que consiste en NHS-poli(óxido de etileno) (POE) (por ejemplo NHS-POE_4-maleimida).

Una vacuna que comprende un péptido de la presente invención y el vehículo farmacéuticamente aceptable puede administrarse mediante cualquier modo de aplicación adecuado, por ejemplo por vía intradérmica (i.d.), intravenosa (i.v.), intraperitoneal (i.p.), intramuscular (i.m.), intranasal, oral, subcutánea (s.c.), etc. y en cualquier dispositivo de administración adecuado (O'Hagan *et al.*, Nature Reviews, Drug Discovery 2(9):727-735, 2003). El compuesto de la presente invención preferentemente se formula para la administración s.c., i.d. o i.m. (ver, por ejemplo, "Handbook of Pharmaceutical Manufacturing Formulations", Sarfaraz Niazi, CRC Press Inc., 2004).

La vacuna según la presente invención comprende por lo menos un péptido que se formula preferentemente para la administración i.d., s.c. o i.m.

Por lo menos un péptido en la vacuna se formula preferentemente con un adyuvante, preferentemente hidróxido de aluminio.

Típicamente, la vacuna contiene el péptido según la presente invención en una cantidad de entre 0,5 y 500 µg, preferentemente de entre 1 y 100 µg y alternativamente de entre 0,1 ng y 10 mg, preferentemente de entre 10 ng y 1 mg, en particular de entre 100 ng y 100 µg, o alternativamente, por ejemplo, de entre 100 fmoles y 10 µmoles, preferentemente de entre 10 pmoles y 1 µmol, en particular de entre 100 pmoles y 100 nmoles. Típicamente, la vacuna puede contener además sustancias auxiliares, por ejemplo tampones, estabilizadores, etc.

Según una forma de realización particularmente preferente de la presente invención, la vacuna puede comprender dos o más de los componentes siguientes:

antígeno: cantidad de péptido en cada dosis	entre 0,1 µg y 1 mg, preferentemente entre 0,5 µg y 500 µg, más preferentemente entre 1 µg y 100 µg, péptido neto
vehículo	cualquier conocido por el experto en la materia que resulte farmacéutica y médicamente aceptable
vehículo por cada dosis	entre 0,1 µg y 50 mg de vehículo
adyuvante/cantidad por cada dosis	Cualquiera que resulte médica y farmacéuticamente aceptable
volumen de inyección	cualquier que resulte médicamente aceptable (también dependiente de la vía de aplicación)
tampón	cualquiera que resulte médica y farmacéuticamente aceptable

Según una forma de realización preferida de la presente invención la vacuna se utiliza para prevenir y/o tratar la ateroesclerosis y enfermedades asociadas a la ateroesclerosis, en la que la enfermedad asociada a la ateroesclerosis preferentemente se selecciona de entre el grupo que consiste en enfermedad oclusiva arterial periférica, enfermedad cardiaca coronaria, ictus y traumatismo cerebral apopléctico.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a la utilización de por lo menos un péptido según la presente invención para la preparación de una vacuna para prevenir y/o tratar la ateroesclerosis y enfermedades asociadas a la ateroesclerosis.

Todavía otro aspecto de la presente invención se refiere a un método para tratar un individuo que sufre o que presenta el riesgo de sufrir aterosclerosis o una enfermedad asociada a la aterosclerosis durante el curso del cual se administra en dicho individuo un péptido o vacuna según la presente invención.

A continuación de la vacuna de la presente invención, el individuo que debe tratare puede recibir también otros principios activos que es conocido que influyen sobre los niveles de LDL y/o HDL en el ser humano y en mamíferos, tales como estatinas, fibratos, ácido nicotínico, inhibidor de la captación del colesterol (por ejemplo ezetimiba), ApoA1 Milano, HDL deslipidado, esteroles vegetales, inhibidores de la PCSK9, etc.

El término "tratamiento" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a la curación de un estado de

enfermedad o afección ya presente. El tratamiento también puede incluir la inhibición, es decir la detención del desarrollo de un estado de enfermedad o afección, o la mejora, es decir, causar la regresión de una enfermedad.

El término "prevención" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a detener completamente o prácticamente por completo la aparición de un estado de enfermedad o afección en un paciente o sujeto, especialmente en el caso de que el paciente o sujeto esté predispuesto a dicho riesgo de contraer un estado de enfermedad o afección.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a anticuerpos que se unen o son dirigidos a un péptido de la presente invención que consiste en entre 6 y 20 residuos aminoácidos y que deriva de la secuencia de aminoácidos VFKGTLKYGYTTAWWLGIDQSIDFEIDSAI (SEC ID nº 23), en la que dicho péptido comprende la secuencia de aminoácidos WWLGID (SEC ID nº 24).

Los anticuerpos dirigidos contra los péptidos de la presente invención pueden utilizarse para inhibir la actividad de la PTEC en un cuerpo humano o animal. Por lo tanto, dichos anticuerpos pueden utilizarse para la vacunación pasiva de seres humanos y animales.

Los anticuerpos según la presente invención, que pueden ser monoclonales o policlonales, pueden prepararse tal como es conocido en la técnica. Los anticuerpos monoclonales pueden producirse mediante una diversidad de técnicas, incluyendo la metodología convencional de anticuerpos monoclonales, por ejemplo la técnica estándar de células somáticas de Kohler y Milstein, Nature 256:495, 1975. También pueden utilizarse otras técnicas para producir anticuerpos monoclonales, tales como la transformación vírica u oncogénica de linfocitos B.

Según una forma de realización preferida, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada ("VH") y una región variable de cadena ligera de anticuerpo ("VL"), comprendiendo cada región, regiones determinantes de complementariedad, en las que las regiones determinantes de complementariedad de la región VH presentan una o más de las secuencias de aminoácidos NVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGHSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGYITNSGSTTYNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCTRGGPYWGQGTLVTVSA (SEC ID nº 104), EVQLVESGGGLVEPGGSLKLSCVASGFTFSTYAMSWFRLTPERRLEWVAAISNGGSQNSYPDSVKGRFTVSRDNAKNTLYLQMSSLRSEDTAMYYCSRNGNYFDYWGQCTTLTVSS (SEC ID nº 105), DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGYISYSGTTTYNPSLKSRISITRHTSKNQFFLQLNSVTTEDSATYYCTRLGYYFDYWGQGTTLTVSS (SEC ID nº 106) o QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDCSMHWVKQAPGQGLKWMGWINTKTGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINILKNEDSATYFCAAHSGKDYAIDYWGQGTSVTVSS (SEC ID nº 107) y la región VL presenta una o más de las secuencias de aminoácidos DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNVGTAVVWYQQKPGQSPKLLIYSASNRYTGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNMQSEDLADYFCQQYSSYPLTFGAGTKLELK (SEC ID nº 108), QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSISYMHWYQQKPGTSPKRWIFDTSKLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCHQRSSYPTFGSGTKLEIK (SEC ID nº 109), DIVMTQSPASLAMSVGQKVTMNCKSSQSLLSSKNQKNFLAWYQQKPGQSPKVLVYFASTRASGVPDRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLADYFCQQQYNTPLTFGAGTKLELK (SEC ID nº 110) o DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHRNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLRISRVEAQDLGVYFCFQGSRVPPTFGGGTKLEIK (SEC ID nº 111).

Resultan particularmente preferidos los anticuerpos que comprenden una región VH que comprende NVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGHSITSKDYAWNWIRQFPGNKLEWMGYITNSGSTTYNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCTRGGPYWGQGTLVTVSA (SEC ID nº 104) en combinación con una región VL que comprende DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNVGTAVVWYQQKPGQSPKLLIYSASNRYTGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNMQSEDLADYFCQQYSSYPLTFGAGTKLELK (SEC ID nº 108) o una región VH que comprende EVQLVESGGGLVEPGGSLKLSCVASGFTFSTYAMSWFRLTPERRLEWVAAISNGGSQNSYPDSVKGRFTVSRDNAKNTLYLQMSSLRSEDTAMYYCSRNGNYFDYWGQGTTLTVSS (SEC ID nº 105), en combinación con una región VL que comprende QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSISYMHWYQQKPGTSPKRWIFDTSKLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCHQRSSYPTFGSGTKLEIK (SEC ID nº 109), o una región VH que comprende DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGYISYSGTTTYNPSLKSRISITRHTSKNQFFLQLNSVTTEDSATYYCTRLGYYFDYWGQGTTLTVSS (SEC ID nº 106) en combinación con una región VL que comprende DIVMTQSPASLAMSVGQKVTMNCKSSQSLLSSKNQKNFLAWYQQKPGQSPKVLVYFASTRASGVPDRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLADYFCQQQYNTPLTFGAGTKLELK (SEC ID nº 110) o una región VH que comprende - QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDCSMHWVKQAPGQGLKWMGWINTKTGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINILKNEDSATYFCAAHSGKDYAIDYWGQGTSVTVSS (SEC ID nº 107) en combinación con una región VL que comprende DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHRNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLRISRVEAQDLGVYFCFQGSRVPPTFGGGTKLEIK (SEC ID nº 111).

Para crear un anticuerpo de cadena sencilla (scFv), los fragmentos de ADN codificantes de VH y VL se unen funcionalmente a otro fragmento codificante de un conector flexible, de manera que las secuencias de VH y VL puedan expresarse como una proteína de cadena sencilla contigua, con los dominios VL y VH unidos mediante el conector flexible (por ejemplo Bird *et al.*, Science 242:423-426, 1988; Huston *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883, 1988; McCafferty *et al.*, Nature 348:552-554, 1990). El anticuerpo de cadena sencilla puede ser monovalente en el caso de que se utilice un único VH y VL; bivalente en el caso de que se utilicen dos VH y VL, o polivalente en el caso de que se utilicen más de dos VH y VL. Pueden generarse anticuerpos biespecíficos o polivalentes que se unen específicamente a PTEC y a otra molécula.

En otro aspecto, pueden prepararse otros anticuerpos modificados utilizando moléculas de ácidos nucleicos codificantes de anticuerpos. Por ejemplo, los "cuerpos Kappa" (III *et al.*, Protein Eng. 10:949-57, 1997), los "minicuerpos" (Martin *et al.*, EMBO J. 13:5303-9, 1994), los "diacuerpos" (Holliger *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448, 1993), o "Janusinas" (Traunecker *et al.*, EMBO J. 10:3655-3659, 1991, y Traunecker *et al.*, Int. J. Cancer (supl.) 7:51-52, 1992) pueden prepararse utilizando técnicas estándares de biología molecular siguiendo las enseñanzas de la memoria.

El anticuerpo de la presente invención está preferentemente humanizado. Los métodos para obtener estos anticuerpos son bien conocidos en la técnica. Otro método es insertar las regiones variables dadas a conocer en la presente memoria en un andamiaje de anticuerpo humano (ver, por ejemplo, Hou S. *et al.*, J. Biochem. 144:115-20, 2008).

La presente invención se ilustra adicionalmente en las figuras y ejemplos siguientes; sin embargo, sin limitarse a los mismos.

La figura 1 representa la mediana de los títulos de antipéptido (figura 1A) y de antiproteína (n=5 ratones en cada grupo) (fig. 1B) para péptidos con SEC ID nº 1 a nº 6 y nº 22 delineados a partir de la secuencia de aminoácidos de la PTEC.

La figura 2 representa la mediana de los títulos de antipéptido (figura 2A) y de antiproteína (figura 2B) (n=5 ratones en cada grupo) para péptidos con SEC ID nº 1 a nº 7 y nº 21 (péptidos truncados).

La figura 3 representa el número de ratones con anticuerpos inhibidores de la actividad de la PTEC (n=5 ratones en cada grupo) para péptidos con EC ID nº 1 y nº 7 a nº 21 (péptidos truncados).

La figura 4 representa el porcentaje de inhibición de la actividad de la PTEC de sueros de ratones (n=5 ratones en cada grupo) vacunados con péptidos que presentaban al secuencia de aminoácidos SEC ID nº 1, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 18 y 19.

La figura 5 representa el reconocimiento de la proteína PTEC humana por los anticuerpos monoclonales de la presente invención.

La figura 6 representa la inhibición de la actividad de la PTEC en suero humano por los anticuerpos monoclonales según la presente invención.

Ejemplos

Materiales y métodos

Vacuna

Los péptidos se conjugaron mediante el conector heterobifuncional GMBS (éster de N-hidroxisuccinimida del ácido 4-maleimidobutírico) a KLH (hemocianina de lapa californiana).

Se suspendieron 15 µg de los péptidos con hidróxido de aluminio (la concentración final de hidróxido de aluminio era de 0,2%). Como tampón se utilizó manitol/fosfato.

Experimentos animales

Se inmunizaron por vía subcutánea 5 ratones Balb/c. Los ratones disponían de acceso a alimento y agua *ad libitum* y se mantuvieron bajo un ciclo de luz/oscuridad de 12:12 h. La edad de los ratones al inicio de los experimentos habitualmente era de 8 a 10 semanas.

Los ratones recibieron inyecciones tres veces a intervalos de 2 semanas de 15 µg de péptido neto acoplado a KLH y adsorbido en alúmina como adyuvante en un volumen de 1 ml en total por vía s.c.

Se extrajo sangre aproximadamente 2 semanas después de la inyección final.

ELISA de péptidos

Con el fin de determinar la inmunogenicidad de las vacunas, se recubrieron placas Nunc-Maxisorb de 96 pocillos con 1 µM de los péptidos respectivos acoplados a albúmina de suero bovino (ASB) en $NaHCO_3$ 0,1 M, pH 9,2 a 9,4. Se utilizó un péptido irrelevante como control negativo. Se incluyó KLH como control positivo y se utilizó como recubrimiento a una concentración de 1 µg/ml. Se bloqueó la unión no específica mediante incubación con tampón de bloqueo (ASB al 5% en PBS). Se añadieron diluciones de suero apropiadas en los pocillos, se diluyeron en serie 1:2 veces y se incubaron durante aproximadamente 1 hora a 37ºC. En cada placa de ELISA se incluyó un suero estándar como control interno. Se detectaron los anticuerpos unidos mediante incubación con anticuerpo de cabra biotinilado anti-IgG de ratón, seguido de peroxidasa de rábano picante acoplada a estreptavidina. Como sustrato se añadió ABTS y se midió la densidad óptica (DO) a 405 nm en un lector de placas Microwell. Se definieron los títulos como la dilución del suero a la que se alcanzaba el 50% de la DOmax en el ensayo.

ELISA de proteínas

Los anticuerpos inducidos por la vacunación se sometieron a ensayo para su capacidad de unirse a PTEC humana expresada recombinantemente y fusionada N-terminalmente con GST ("GST-PTEC") utilizando el protocolo descrito en la sección "ELISA de péptidos".

Ensayo de inhibición de la actividad de la PTEC

Se determinó la actividad de la PTEC con el kit de ensayo de actividad de PTEC Roar (RB-CETP, Roar Biomedical) mediante la medición de la transferencia de un sustrato marcado fluorescentemente siguiendo el protocolo proporcionado por el fabricante. Los ratones no presentan actividad endógena de PTEC, por lo tanto se introdujo una modificación de este protocolo. Se utilizó suero humano como fuente de PTEC y se mezcló con la misma cantidad de suero procedente de ratones vacunados conjuntamente con partículas donantes y aceptoras (componentes del kit de ensayo de actividad de PTEC).

Los sueros de ratón que contenían anticuerpos inhibidores de PTEC llevaron a una reducción de la señal en este ensayo. Los sueros de los ratones en los que se había inyectado péptido irrelevante se utilizaron como control negativo.

Para el ensayo de inhibición por anticuerpos monoclonales, se añadieron las cantidades indicadas de anticuerpos purificados al suero humano.

Ejemplo 1: comparación entre varios epítopos potenciales de PTEC

SEC ID nº	Secuencia de aminoácidos	Posición dentro de la proteína PTEC madura
1	C-YTTAWWLGIDQS	AA101-112
2	C-KAMMLLGQV	AA47-55
3	C-LHLQGEREPGWIKQ	AA152-165
4	C-DEFKAVLETWG	AA290-300
5	C-GFNTNQEIFQEVVGGFP	AA300-316
6	C-ESIQSFLQSMITA	AA403-415
22	C-FPRPDQQHSV	AA350-359

Mediana de los títulos de anticuerpos contra péptido inyectado y contra PTEC (ver las figuras 1A y 1B)

	Valores de mediana (n=5)	
SEC ID nº	**Títulos antipéptido**	**Títulos antiproteína**
1	70.000	800
2	66.000	0
3	97.000	50
4	140.000	0
5	100.000	100
6	69.000	0
22	229.000	0

Estos datos demuestran claramente que la administración de un péptido que comprende o que consiste en la secuencia de aminoácidos SEC ID nº 1 conduce a la formación de no sólo anticuerpos dirigidos contra el péptido mismo sino también contra la proteína PTEC madura. La administración de otros fragmentos de PTEC sólo indujo la formación de anticuerpos dirigidos contra el fragmento respectivo y no contra la proteína PTEC madura.

Ejemplo 2: comparación entre la respuesta inmunitaria a SEC ID nº 1 y las versiones truncadas de la misma

SEC ID nº	Secuencia de aminoácidos	Posición dentro de la proteína PTEC madura
1	C-YTTAWWLGIDQS	AA101-112
7	C-YGYTTAWWLGIDQSID	AA99-114
8	C-TTAWWLGIDQS	AA102-112
9	C-TAWWLGIDQS	AA103-112
10	C-AWWLGIDQS	AA104-112
11	C-WWLGIDQS	AA105-112
12	C-WLGIDQS	AA106-112
13	C-YTTAWWLGIDQ	AA101-111
14	C-YTTAWWLGID	AA101-110
15	C-YTTAWWLGI	AA101-109
16	C-YTTAWWLG	AA101-108
17	C-YTTAWWL	AA101-107
18	C-TTAWWLGIDQ	AA102-111
19	TTAWWLGID-C	AA102-110
20	C-TTAWWLGI	AA102-109
21	C-TAWWLGI	AA102-108

Mediana de títulos de anticuerpo contra péptido inyectado y contra PTEC así como número de ratones con anticuerpos reductores de la actividad de la PTEC de suero humano y porcentaje de inhibición de la actividad de PTEC en suero humano tras la adición de sueros de ratones vacunados una vez (ver las figuras 2A, 2B, 3 y 4).

	Valores de mediana (n=5)	
SEC ID nº	**Títulos de antipéptido**	**Títulos de antiproteína**
1	70.000	800
7	33.000	500
8	89.000	1.200
9	173.000	2.200
10	191.000	1.700
11	330.000	1.100
12	153.000	0
13	143.000	1.200
14	630.000	600
15	111.000	300
16	74.000	0
17	94.000	0
18	216.000	900
19	114.000	1.300
20	124.000	300
21	99.000	0

Estos datos revelan que los fragmentos de PTEC que comprenden WWLGID (SEC ID nº 24) pueden inducir la formación de anticuerpos dirigidos contra la PTEC madura. En contraste con lo expuesto anteriormente, otros fragmentos de PTEC derivados de la SEC ID nº 23 que no comprendían la secuencia de aminoácidos SEC ID nº 24 no mostraron estos efectos.

Ejemplo 3: inhibición de la actividad de la PTEC

SEC ID nº	Nº de ratones con anticuerpos inhibidores de la actividad de la PTEC
1	3 de 5
7	3 de 5
8	4 de 5
9	4 de 5
10	5 de 5
11	5 de 5
12	n.e.
13	1 de 5
14	1 de 5
15	0 de 5
16	n.e.

SEC ID nº	Nº de ratones con anticuerpos inhibidores de la actividad de la PTEC
17	n.e.
18	4 de 5
19	3 de 5
20	n.e.
21	n.e.

n.e. no sometido a ensayo debido a los bajos títulos de antiproteína

Ejemplo 4:

Anticuerpos monoclonales:

Se vacunaron ratones Balb/c con 15 µg de péptido neto SEC ID nº 10 acoplado a KLH. Como adyuvante se utilizó Alhydrogel. Se fusionaron células de bazo de ratón con títulos elevados de antiproteína PTEC con células de mieloma de ratón siguiendo técnicas estándares (protocolo adaptado de Köhler G. y Milstein C., Nature 256:495-497, 1975). Se sometieron a ensayo clones de hibridoma en ELISA estándares para la producción de anticuerpos que reconocían específicamente el péptido inyectado así como proteína PTEC humana expresada recombinantemente. Se cultivaron clones seleccionados y se purificaron anticuerpos monoclonales a partir de sobrenadantes de cultivo de tejidos siguiendo protocolos estándares.

Secuenciación de anticuerpos monoclonales:

Se extrajo el ARN de las células de hibridoma y se generó ADNc mediante transcripción inversa con un cebador oligo(dT). A continuación se llevaron a cabo reacciones de PCR utilizando cebadores de dominio variable para amplificar las regiones de VH y VL del ADN del anticuerpo monoclonal. Se extrajeron los productos de VH y VL y se purificaron en gel y se clonaron en un vector de secuenciación y se transformaron en TOP10. Se recolectaron colonias seleccionadas y se analizaron mediante secuenciación.

Datos de cuatro anticuerpos monoclonales seleccionados:

clones CJ7-6-B7, 5/C7-6-C8, 12/B3-5-B11 y BTS4-1.

Se llevó a cabo el ELISA de la proteína PTEC humana y la inhibición de la actividad de PTEC tal como se ha expuesto anteriormente.

<u>Reconocimiento de la proteína PTEC humana por anticuerpos monoclonales (ver la figura 5)</u>

Estos datos revelaron que la totalidad de los 4 anticuerpos reconocían la proteína PTEC de recubrimiento. La titulación en el ELISA se inició con las mismas cantidades de todos los anticuerpos (dilución 2 mg/ml). Tal como se esperaba, los anticuerpos monoclonales diferían en su señal de ELISA, lo que podría explicarse por diferentes afinidades para la proteína recubierta.

<u>Inhibición de la actividad de la PTEC en suero humano por anticuerpos monoclonales (ver la figura 6)</u>

Estos datos revelaron que la totalidad de los 4 anticuerpos no sólo se unían a la PTEC sino que también inhibían la actividad de la PTEC. A mayor cantidad añadida de anticuerpo, se observaba una mayor reducción de la actividad de la PTEC.

<u>Secuencias de anticuerpos monoclonales (sólo se proporcionan los dominios variables):</u>

CJ7-6-B7

Cadena pesada:

NVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGHSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGYIT-
NSGSTTYNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCTRGGPYWGQGTLVTVSA

Cadena ligera:

DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNVGTAVVWYQQKPGQSPKLLIYSASNRYTGVP-
DRFTGSGSGTDFTLTITNMQSEDLADYFCQQYSSYPLTFGAGTKLELK

5C7-6-C8

Cadena pesada

EVQLVESGGGLVEPGGSLKLSCVASGFTFSTYAMSWFRLTPERRLEWVAAISNGGSQN-
SYPDSVKGRFTVSRDNAKNTLYLQMSSLRSEDTAMYYCSRNGNYFDYWGQGTTLTVSS

Cadena ligera

QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSISYMHWYQQKPGTSPKRWIFDTSKLAS-
GVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCHQRSSYPTFGSGTKLEIK

12B3-5-B11

Cadena pesada:

DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEW-
MGYISYSGTTTYNPSLKSRISITRHTSKNQFFLQLNSVTTEDSATYYC-
TRLGYYFDYWGQGTTLTVSS

Cadena ligera

DIVMTQSPASLAMSVGQKVTMNCKSSQSLLSSKNQKNFLAWYQQKPGQSPKVLVY-
FASTRASGVPDRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLADYFCQQQYNTPLTFGAGTKLELK

BTS4-1

Cadena pesada:

QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDCSMHWVKQAPGQGLK-
WMGWINTKTGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINILKNEDSATY-
FCAAHSGKDYAIDYWGQGTSVTVSS

Cadena ligera

DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHRNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLI-
YKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLRISRVEAQDLGVYFCFQGSRVPPTFGGGTKLEIK

Listado de secuencias

<110> Affiris AG

<120> Fragmentos de PTEC

<130> R 62064

<150> EP 11169481.6
<151> 2011-06-10

<160> 111

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 1

Tyr Thr Thr Ala Trp Trp Leu Gly Ile Asp Gln Ser
1 5 10

<210> 2
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 2

Lys Ala Met Met Leu Leu Gly Gln Val
1 5

<210> 3
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 3

Leu His Leu Gln Gly Glu Arg Glu Pro Gly Trp Ile Lys Gln
1 5 10

<210> 4
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 4

Asp Glu Phe Lys Ala Val Leu Glu Thr Trp Gly
1 5 10

<210> 5
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 5

Gly Phe Asn Thr Asn Gln Glu Ile Phe Gln Glu Val Val Gly Gly Phe
1 5 10 15

Pro

<210> 6
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 6

Glu Ser Ile Gln Ser Phe Leu Gln Ser Met Ile Thr Ala
1 5 10

<210> 7
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 7

Tyr Gly Tyr Thr Thr Ala Trp Trp Leu Gly Ile Asp Gln Ser Ile Asp
1 5 10 15

<210> 8
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 8

Thr Thr Ala Trp Trp Leu Gly Ile Asp Gln Ser
1 5 10

<210> 9
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 9

Thr Ala Trp Trp Leu Gly Ile Asp Gln Ser
1 5 10

<210> 10
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 10

Ala Trp Trp Leu Gly Ile Asp Gln Ser
1 5

<210> 11
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 11

Trp Trp Leu Gly Ile Asp Gln Ser
1 5

<210> 12
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 12

Trp Leu Gly Ile Asp Gln Ser
1 5

<210> 13
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 13

Tyr Thr Thr Ala Trp Trp Leu Gly Ile Asp Gln
1 5 10

<210> 14
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 14

Tyr Thr Thr Ala Trp Trp Leu Gly Ile Asp
1 5 10

<210> 15
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 15

Tyr Thr Thr Ala Trp Trp Leu Gly Ile
1 5

<210> 16
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 16

Tyr Thr Thr Ala Trp Trp Leu Gly
1 5

<210> 17
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 17

Tyr Thr Thr Ala Trp Trp Leu
1 5

<210> 18
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 18

Thr Thr Ala Trp Trp Leu Gly Ile Asp Gln
1 5 10

<210> 19
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 19

Thr Thr Ala Trp Trp Leu Gly Ile Asp
1 5

<210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 20

Thr Thr Ala Trp Trp Leu Gly Ile
1 5

<210> 21

<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 21

Thr Ala Trp Trp Leu Gly Ile
1 5

<210> 22
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 22

Phe Pro Arg Pro Asp Gln Gln His Ser Val
1 5 10

<210> 23
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 23

Val Phe Lys Gly Thr Leu Lys Tyr Gly Tyr Thr Thr Ala Trp Trp Leu
1 5 10 15
Gly Ile Asp Gln Ser Ile Asp Phe Glu Ile Asp Ser Ala Ile
20 25 30

<210> 24
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de PTEC

<400> 24

Trp Trp Leu Gly Ile Asp
1 5

<210> 25
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> Xaa = glicina, alanina, fenilalanina, tirosina o lisina

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa = fenilalanina o ningún residuo aminoácido

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> Xaa = ácido glutámico, tirosina, alanina, glutamina, lisina o serina

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> Xaa = histidina, valina, leucina, fenilalanina, isoleucina

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> Xaa = leucina, triptófano, serina, isoleucina, fenilalanina o tirosina

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> Xaa = valina, treonina, fenilalanina o isoleucina

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (11)..(11)
<223> Xaa = fenilalanina, alanina, triptófano, arginina, serina, leucina, glutamina, valina o metionina

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (12)..(12)
<223> Xaa = leucina, alanina, serina, triptófano, ácido glutámico, arginina o isoleucina

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (13)..(13)
<223> Xaa = ácido glutámico, alanina, histidina, ácido aspártico, lisina, arginina, serina o glutamina

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (14)..(14)
<223> Xaa = serina o tirosina

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (15)..(15)
<223> Xaa = leucina, alanina o isoleucina

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(16)
<223> Xaa = serina, treonina o asparagina

<400> 25

Phe Xaa Xaa Pro Xaa His Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

<210> 26
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 26

Phe Gly Phe Pro Glu His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 27
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 27

Phe Pro Glu His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu
1 5 10

<210> 28
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 28

Ala Gly Phe Pro Glu His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 29
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 29

Phe Ala Phe Pro Glu His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 30
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 30

Phe Gly Ala Pro Glu His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 31
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 31

Phe Gly Phe Ala Glu His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 32
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 32

Phe Gly Phe Pro Ala His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 33
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 33

Phe Gly Phe Pro Glu Ala Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 34
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 34

Phe Gly Phe Pro Glu His Ala Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 35
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 35

Phe Gly Phe Pro Glu His Leu Ala Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 36
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 36

Phe Gly Phe Pro Glu His Leu Leu Ala Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 37
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 37

Phe Gly Phe Pro Glu His Leu Leu Val Ala Phe Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 38
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 38

Phe Gly Phe Pro Glu His Leu Leu Val Asp Ala Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 39
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 39

Phe Gly Phe Pro Glu His Leu Leu Val Asp Phe Ala Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 40
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 40

Phe Gly Phe Pro Glu His Leu Leu Val Asp Phe Leu Ala Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 41
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 41

Phe Gly Phe Pro Glu His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ala Leu Ser
1 5 10 15

<210> 42
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 42

Phe Gly Phe Pro Glu His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Ala Ser
1 5 10 15

<210> 43
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 43

Phe Gly Phe Pro Glu His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ala
1 5 10 15

<210> 44
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 44

Phe Ala Phe Pro Ala His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ala Leu Ala
1 5 10 15

<210> 45
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 45

Phe Gly Phe Pro Gly His Leu Ile Trp Asp Ser Leu His Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 46
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 46

Phe Gly Phe Pro Tyr His His Leu Val Asp Gln Leu His Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 47
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 47

Phe Gly Phe Pro Tyr His Val Gln Val Asp Val Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 48
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 48

Phe Gly Phe Pro Ser His His Leu Gln Asp Ser Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 49
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 49

Phe Gly Phe Pro Leu His Phe Arg Ser Asp Arg Ile Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 50
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 50

Phe Gly Phe Pro Lys His Leu Tyr Ala Asp Met Ser Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 51
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 51

Phe Gly Phe Pro Ala His Leu Ser Arg Asp Leu Arg Gln Ser Leu Ser

1 5 10 15

<210> 52
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 52

Phe Gly Phe Pro Phe His Phe Ala Gln Asp Ser Trp Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 53
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 53

Phe Gly Phe Pro Gln His Leu Thr Thr Asp Arg Ala Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 54
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 54

Phe Gly Phe Pro Gln His Leu Thr Thr Asp Trp Ala Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 55
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 55

Phe Gly Phe Pro Gln His Leu Thr Thr Asp Arg Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 56
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 56

Phe Gly Phe Pro Gln His Leu Thr Thr Asp Trp Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 57
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 57

Ala Thr Pro Ser His Leu Ile Ile Asp Arg Ala Gln
1 5 10

<210> 58
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 58

Ala Thr Pro Ser His Leu Ile Ile Asp Arg Ala Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 59
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 59

Phe Gly Phe Pro Ser His Leu Ile Ile Asp Arg Ala Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 60
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 60

Phe Gly Phe Pro Ser His Leu Ile Ile Asp Trp Ala Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 61
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 61

Phe Gly Phe Pro Ser His Leu Ile Ile Asp Trp Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 62
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 62

Phe Gly Phe Pro Ser His Leu Ile Ile Asp Trp Ser Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 63
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 63

Phe Ala Phe Pro Ala His Val Ser Ile Asp Trp Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 64
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 64

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Ser Ile Asp Trp Leu Gln Leu Leu Ser
1 5 10 15

<210> 65
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 65

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Ser Ile Asp Trp Leu Gln Trp Leu Ser
1 5 10 15

<210> 66
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 66

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Ser Ile Asp Trp Leu Gln Asn Leu Ser
1 5 10 15

<210> 67

<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 67

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Ser Ile Asp Trp Leu Gln Thr Leu Ser
1 5 10 15

<210> 68
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 68

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Ser Ile Asp Trp Leu Gln Tyr Leu Ser
1 5 10 15

<210> 69
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 69

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Ser Ile Asp Trp Leu Gln Ser Ile Ser
1 5 10 15

<210> 70
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 70

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Ser Ile Asp Trp Leu Gln Ser Leu Thr
1 5 10 15

<210> 71
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 71

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Ser Ile Asp Trp Leu Gln Ser Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 72
<211> 16

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 72

Phe Ala Phe Pro Ala His Val Ser Ile Asp Trp Leu Gln Ala Leu Ala
1 5 10 15

<210> 73
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 73

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Ser Ile Asp Arg Ala Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 74
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 74

Phe Gly Phe Pro Thr His Val Ser Ile Asp Trp Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 75
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 75

Phe Gly Phe Pro Phe His Val Ser Ile Asp Trp Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 76
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 76

Phe Gly Phe Pro Ala His Ile Ser Ile Asp Trp Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 77
<211> 16
<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 77

Phe Gly Phe Pro Ala His Ile Ile Ile Asp Trp Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 78
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 78

Phe Gly Phe Pro Ala His Leu Thr Thr Asp Trp Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 79
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 79

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Phe Ile Asp Trp Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 80
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 80

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Tyr Ile Asp Trp Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 81
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 81

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Ser Leu Asp Trp Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 82
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 82

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Ser Ala Asp Trp Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 83
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 83

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Trp Ile Asp Trp Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 84
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 84

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Phe Ile Asp Trp Leu Gln Ser Leu Asn
1 5 10 15

<210> 85
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 85

Phe Gly Phe Pro Ala His Phe Ser Ile Asp Trp Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 86
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 86

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Ser Phe Asp Trp Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 87
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 87

Phe Gly Phe Pro Glu His Val Phe Ile Asp Trp Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 88
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 88

Phe Gly Phe Pro Gln His Leu Phe Thr Asp Trp Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 89
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 89

Phe Gly Phe Pro Lys His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 90
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 90

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Ser Ile Asp Trp Ser Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 91
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 91

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Ser Ile Asp Phe Ser Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 92
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 92

Phe Gly Phe Pro Ser His Ile Ile Ile Asp Trp Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 93
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 93

Phe Gly Phe Pro Ser His Leu Ile Ile Glu Trp Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 94
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 94

Phe Ala Phe Pro Ala His Val Phe Ile Asp Trp Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 95
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 95

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Phe Ile Asp Trp Leu Gln Ala Leu Ser
1 5 10 15

<210> 96
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 96

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Phe Ile Asp Trp Leu Gln Ser Leu Ala
1 5 10 15

<210> 97
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 97

Phe Ala Phe Pro Ala His Val Phe Ile Asp Trp Leu Gln Ala Leu Ala
1 5 10 15

<210> 98
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 98

Phe Gly Phe Pro Glu His Leu Phe Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 99
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 99

Phe Gly Phe Pro Ala His Val His Ile Asp Trp Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 100
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 100

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Pro Ile Asp Trp Leu Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 101
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 101

Phe Gly Phe Pro Ser His Leu Phe Ile Asp Trp Ala Gln Ser Leu Ser
1 5 10 15

<210> 102
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 102

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Tyr Ile Asp Trp Leu Gln
1 5 10

<210> 103
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mimótopo de un fragmento de PTEC

<400> 103

Phe Gly Phe Pro Ala His Val Phe Ile Asp Trp Leu Gln
1 5 10

<210> 104
<211> 113
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia artificial

<400> 104

Asn Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly His Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Thr Asn Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
65 70 75 80

Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Gly Gly Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ala

<210> 105
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia artificial

<400> 105

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Glu Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Phe Arg Leu Thr Pro Glu Arg Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ala Ile Ser Asn Gly Gly Ser Gln Asn Ser Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Arg Asn Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 106
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia artificial

<400> 106

Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Thr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg His Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
65 70 75 80

Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Leu Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 107

<211> 119
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia artificial

<400> 107

```
Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
1               5                   10                  15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Cys
            20                  25                  30

Ser Met His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Lys Trp Met
        35                  40                  45

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Ile Asn Ile Leu Lys Asn Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Phe Cys
                85                  90                  95

Ala Ala His Ser Gly Lys Asp Tyr Ala Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 108
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia artificial

<400> 108

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
20 25 30

Val Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Asn Met Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 109
<211> 105
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia artificial

<400> 109

Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Phe
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Thr Phe
85 90 95

Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 110
<211> 113
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia artificial

<400> 110

```
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Met Ser Val Gly
1               5                   10                  15

Gln Lys Val Thr Met Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Ser
            20                  25                  30

Lys Asn Gln Lys Asn Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
        35                  40                  45

Ser Pro Lys Val Leu Val Tyr Phe Ala Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val
    50                  55                  60

Pro Asp Arg Phe Ile Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65                  70                  75                  80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln
                85                  90                  95

Gln Tyr Asn Thr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
            100                 105                 110

Lys
```

<210> 111
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia artificial

<400> 111

```
Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1               5                   10                  15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Arg
            20                  25                  30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile
65                  70                  75                  80

Ser Arg Val Glu Ala Gln Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly
                85                  90                  95

Ser Arg Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

REIVINDICACIONES

1. Péptido que consiste en 6 a 20 residuos aminoácidos y que deriva de la secuencia de aminoácidos VFKGTLKYGYTTAWWLGIDQSIDFEIDSAI (SEC ID nº 23), en el que dicho péptido comprende la secuencia de aminoácidos WWLGID (SEC ID nº 24).

2. Péptido según la reivindicación 1, caracterizado por que la secuencia de aminoácidos del péptido se selecciona de entre el grupo que consiste en YTTAWWLGIDQS (SEC ID nº 1), YGYTTAWWLGIDQSID (SEC ID nº 7), TTAWWLGIDQS (SEC ID nº 8), TAWWLGIDQS (SEC ID nº 9), AWWLGIDQS (SEC ID nº 10), WWLGIDQS (SEC ID nº 11), YTTAWWLGIDQ (SEC ID nº 13), YTTAWWLGID (SEC ID nº 14), TTAWWLGIDQ (SEC ID nº 18) y TTAWWLGID (SEC ID nº 19).

3. Péptido según la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que el péptido comprende en su extremo C y/o N un residuo de cisteína.

4. Péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 destinado a ser utilizado para prevenir y/o tratar la ateroesclerosis y las enfermedades asociadas a la aterosclerosis.

5. Péptido según la reivindicación 4, caracterizado por que la enfermedad asociada a la ateroesclerosis se selecciona de entre el grupo que consiste en enfermedad oclusiva arterial periférica, enfermedad cardiaca coronaria, traumatismo cerebral e ictus apoplécticos.

6. Péptido según la reivindicación 4 o 5, caracterizado por que el péptido se administra a un individuo en una cantidad de 0,5 a 500 µg, preferentemente 1 a 100 µg, por inmunización.

7. Vacuna que comprende por lo menos un péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.

8. Vacuna según la reivindicación 7, caracterizada por que por lo menos un péptido se acopla a o se fusiona con un vehículo farmacéuticamente aceptable, preferentemente KLH (hemocianina de lapa californiana).

9. Vacuna según la reivindicación 7 u 8, caracterizada por que por lo menos un péptido se formula para la administración intradérmica, subcutánea o intramuscular.

10. Vacuna según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, caracterizada por que por lo menos un péptido se formula con un adyuvante, preferentemente hidróxido de aluminio.

11. Vacuna según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, caracterizada por que la vacuna comprende dicho por lo menos un péptido en una cantidad de 0,5 a 500 µg, preferentemente 1 a 100 µg, por inmunización.

12. Vacuna según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11 destinada a ser utilizada para prevenir y/o tratar la ateroesclerosis y enfermedades asociadas a la ateroesclerosis.

13. Vacuna según la reivindicación 12, caracterizada por que la enfermedad asociada a la ateroesclerosis se selecciona de entre el grupo que consiste en enfermedad oclusiva arterial periférica, enfermedad cardiaca coronaria, traumatismo cerebral e ictus apoplécticos.

14. Anticuerpo que se une a un péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.

15. Anticuerpo según la reivindicación 14, caracterizado por que el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada ("VH") y una región variable de cadena ligera ("VL") de anticuerpo, comprendiendo cada región unas regiones determinantes de complementariedad, en el que las regiones determinantes de complementariedad de la región VH presentan una o más de las secuencias de aminoácidos NVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGHSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGYITNSGSTTYNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCTRGGPYWGQGTLVTVSA (SEC ID nº 104), EVQLVESGGGLVEPGGSLKLSCVASGFTFSTYAMSWFRLTPERRLEWVAAISNGGSQNSYPDSVKGRFTVSRDNAKNTLYLQMSSLRSEDTAMYYCSRNGNYFDYWGQCTTLTVSS (SEC ID nº 105), DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGYISYSGTTTYNPSLKSRISITRHTSKNQFFLQLNSVTTEDSATYYCTRLGYYFDYWGQGTTLTVSS (SEC ID nº 106) o QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDCSMHWVKQAPGQGLKWMGWINTKTGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINILKNEDSATYFCAAHSGKDYAIDYWGQGTSVTVSS (SEC ID nº 107) y la región VL presenta una o más de las secuencias de aminoácidos DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNVGTAVVWYQQKPGQSPKLLIYSASNRYTGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNMQSEDLADYFCQQYSSYPLTFGAGTKLELK (SEC ID nº 108), QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSISYMHWYQQKPGTSPKRWIFDTSKLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCHQRSSYPTFGSGTKLEIK (SEC ID nº 109), DIVMTQSPASLAMSVGQKVTMNCKSSQSLLSSKNQKNFLAWYQQKPGQSPKVLVYFASTRASGVPDRFIGSGSGTD

FTLTISSVQAEDLADYFCQQQYNTPLTFGAGTKLELK (SEC ID nº 110) o DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHRNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLRISRVEAQDLGVYFCFQGSRVPPTFGGGTKLEIK (SEC ID nº 111).

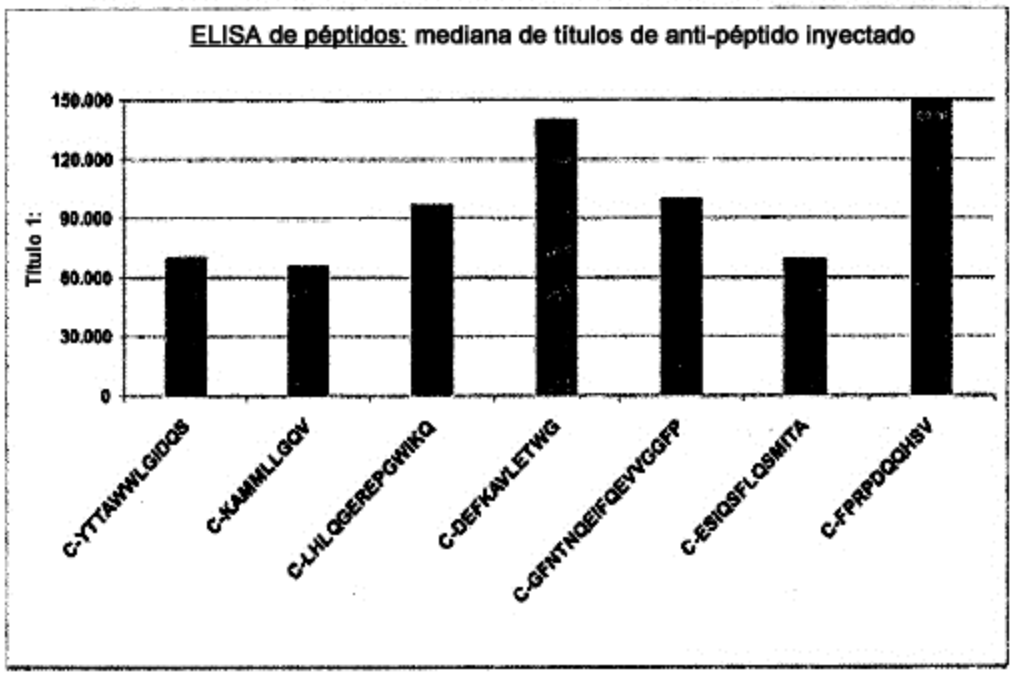
ELISA de péptidos: mediana de títulos de anti-péptido inyectado
Título 1:
150.000
120.000
90.000
60.000
30.000
0
C-YTTAWWLGIDQS
C-KAMMLLGQV
C-LHLQGEREPGWIKQ
C-DEFKAVLETWG
C-GFNTNQEIFQEVVGGFP
C-ESIQSFLQSMITA
C-FPRPDQQHSV

Fig. 1A

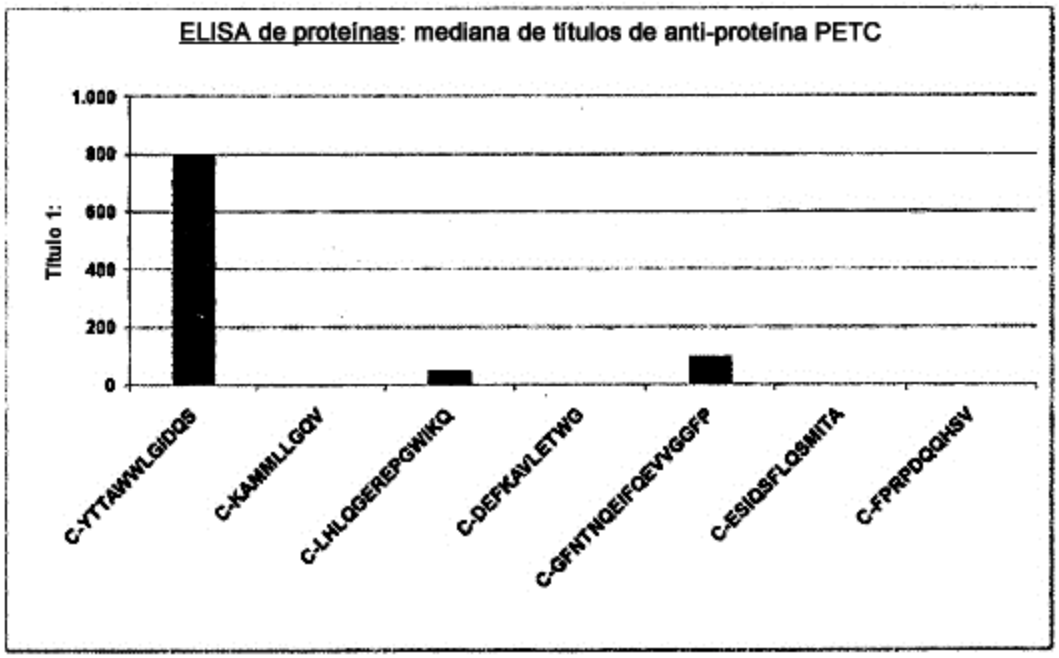
ELISA de proteínas: mediana de títulos de anti-proteína PETC
Título 1:
1.000
800
600
400
200
0
C-YTTAWWLGIDQS
C-KAMMLLGQV
C-LHLQGEREPGWIKQ
C-DEFKAVLETWG
C-GFNTNQEIFQEVVGGFP
C-ESIQSFLQSMITA
C-FPRPDQQHSV

Fig. 1B

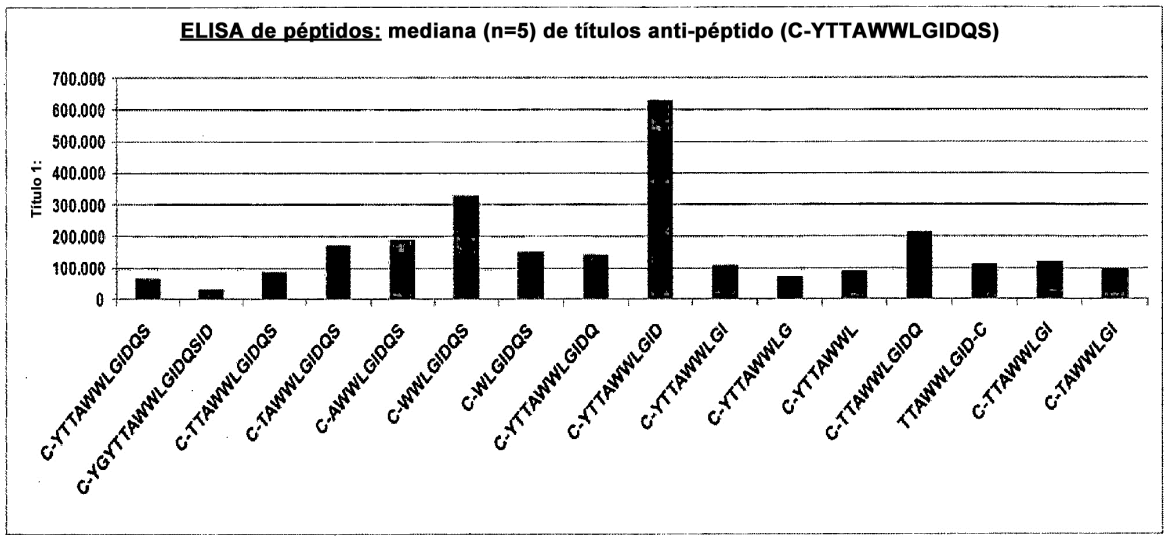
ELISA de péptidos: mediana (n=5) de títulos anti-péptido (C-YTTAWWLGIDQS)
Título 1:
700.000
600.000
500.000
400.000
300.000
200.000
100.000
0
C-YTTAWWLGIDQS
C-YGYTTAWWLGIDQSID
C-TTAWWLGIDQS
C-TAWWLGIDQS
C-AWWLGIDQS
C-WWLGIDQS
C-WLGIDQS
C-YTTAWWLGIDQ
C-YTTAWWLGID
C-YTTAWWLGI
C-YTTAWWLG
C-YTTAWWL
C-TTAWWLGIDQ
TTAWWLGID-C
C-TTAWWLGI
C-TAWWLGI

Fig. 2A

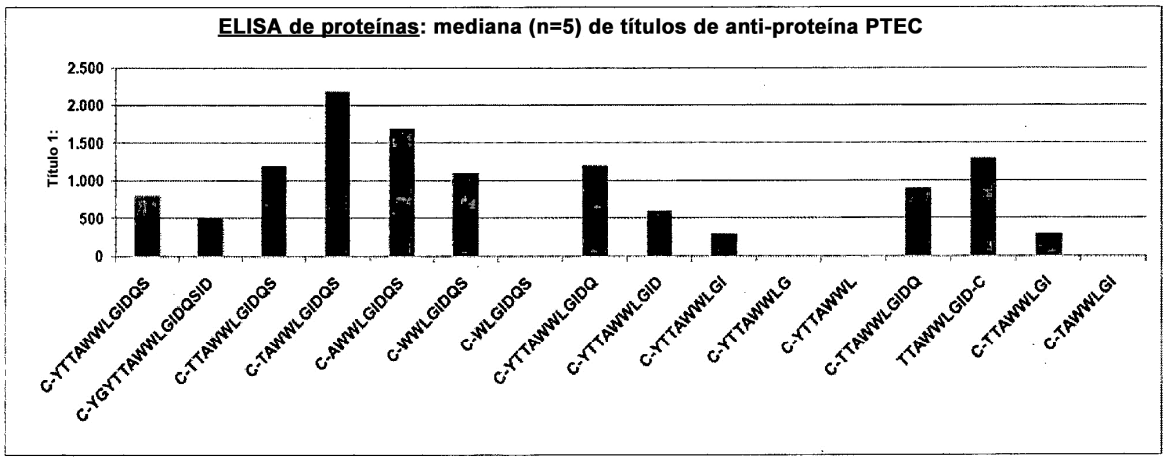
ELISA de proteínas: mediana (n=5) de títulos de anti-proteína PTEC
Título 1:
2.500
2.000
1.500
1.000
500
0
C-YTTAWWLGIDQS
C-YGYTTAWWLGIDQSID
C-TTAWWLGIDQS
C-TAWWLGIDQS
C-AWWLGIDQS
C-WWLGIDQS
C-WLGIDQS
C-YTTAWWLGIDQ
C-YTTAWWLGID
C-YTTAWWLGI
C-YTTAWWLG
C-YTTAWWL
C-TTAWWLGIDQ
TTAWWLGID-C
C-TTAWWLGI
C-TAWWLGI

Fig. 2B

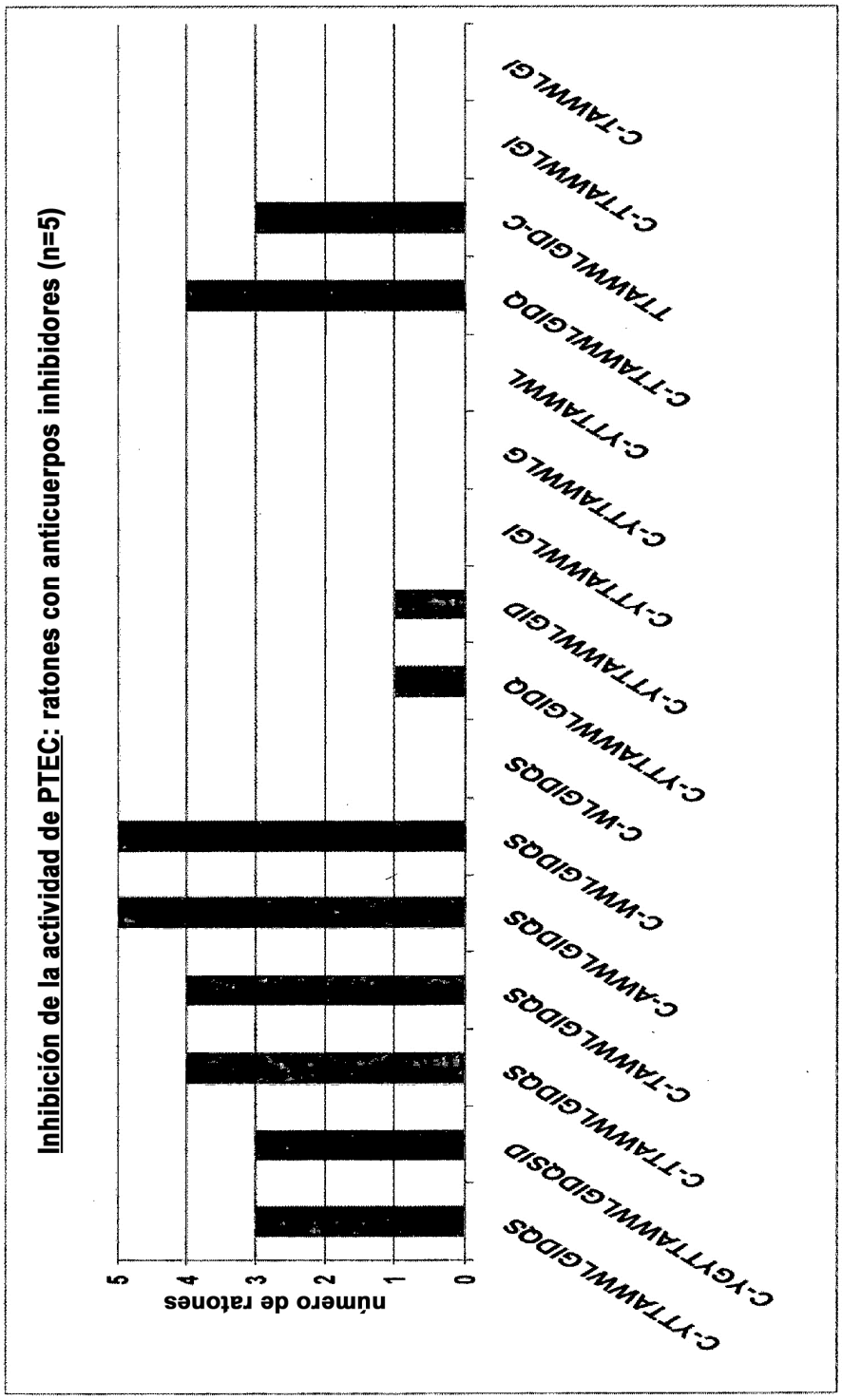
Inhibición de la actividad de PTEC: ratones con anticuerpos inhibidores (n=5)
número de ratones
5
4
3
2
1
0
C-YTTAWWLGIDQS
C-YGYTTAWWLGIDQSID
C-TTAWWLGIDQS
C-TAWWLGIDQS
C-AWWLGIDQS
C-WWLGIDQS
C-WLGIDQS
C-YTTAWWLGIDQ
C-YTTAWWLGID
C-YTTAWWLGI
C-YTTAWWLG
C-YTTAWWL
C-TTAWWLGIDQ
TTAWWLGID-C
C-TTAWWLGI
C-TAWWLGI

Fig. 3

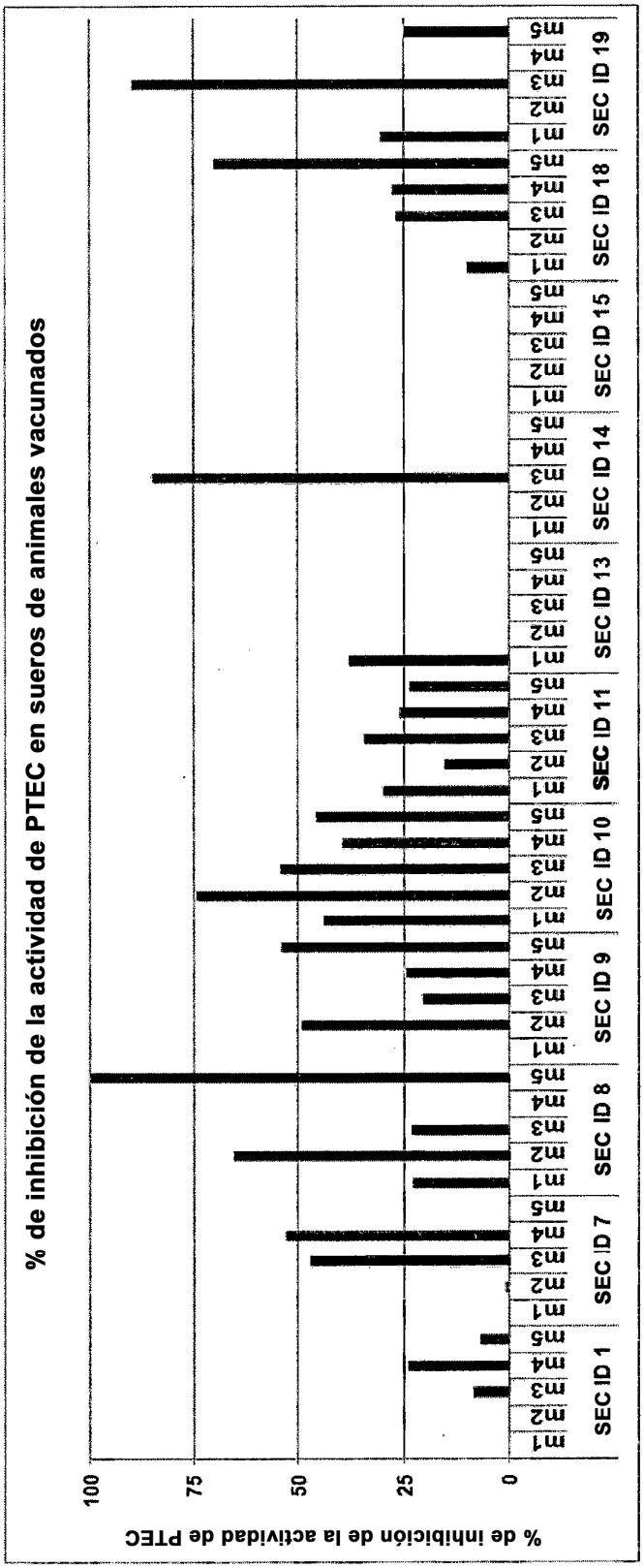
% de inhibición de la actividad de PTEC en sueros de animales vacunados
% de inhibición de la actividad de PTEC
100
75
50
25
0
SEC ID 1
SEC ID 7
SEC ID 8
SEC ID 9
SEC ID 10
SEC ID 11
SEC ID 13
SEC ID 14
SEC ID 15
SEC ID 18
SEC ID 19
m1
m2
m3
m4
m5

Fig. 4

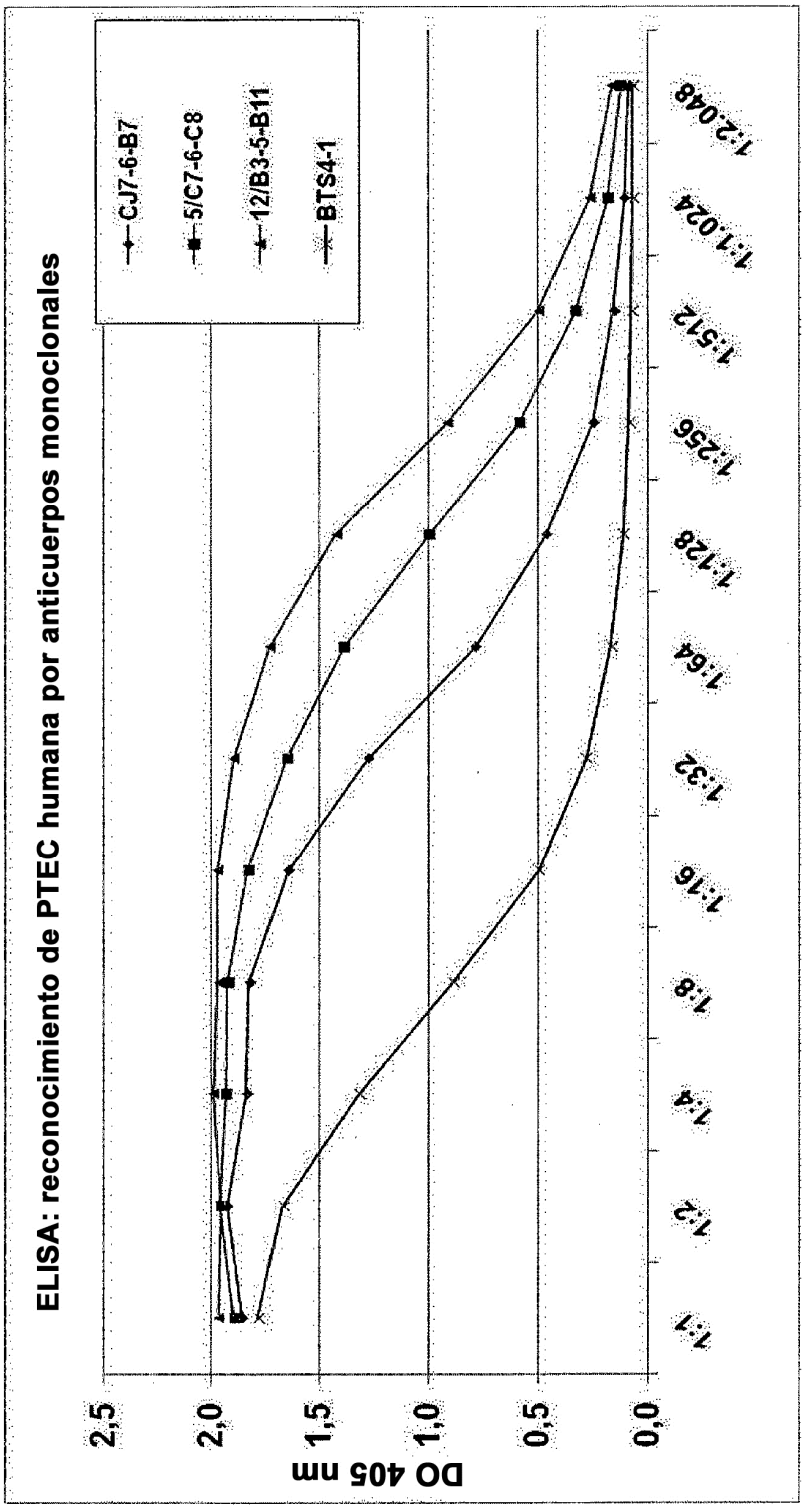
ELISA: reconocimiento de PTEC humana por anticuerpos monoclonales
CJ7-6-B7
5/C7-6-C8
12/B3-5-B11
BTS4-1
DO 405 nm
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
1:1
1:2
1:4
1:8
1:16
1:32
1:64
1:128
1:256
1:512
1:1.024
1:2.048

Fig. 5

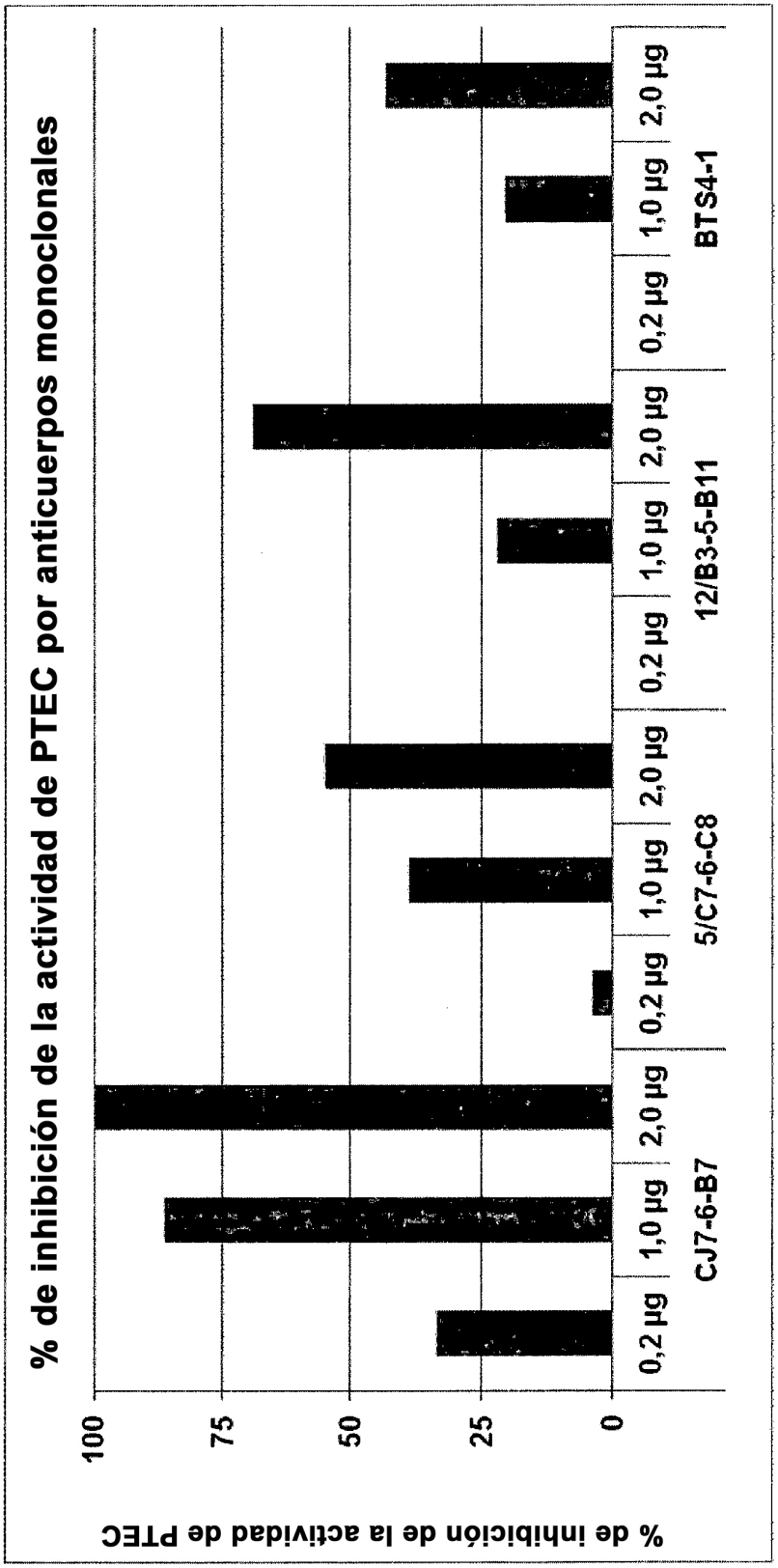
% de inhibición de la actividad de PTEC por anticuerpos monoclonales
% de inhibición de la actividad de PTEC
100
75
50
25
0
0,2 µg
1,0 µg
2,0 µg
CJ7-6-B7
0,2 µg
1,0 µg
2,0 µg
5/C7-6-C8
0,2 µg
1,0 µg
2,0 µg
12/B3-5-B11
0,2 µg
1,0 µg
2,0 µg
BTS4-1

Fig. 6