

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 550 030**

51 Int. Cl.:

A61K 39/00 (2006.01)

A61K 38/19 (2006.01)

C07K 14/52 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.04.2003 E 10183953 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.07.2015 EP 2314311**

54 Título: **Péptidos y su aplicación en terapéutica**

30 Prioridad:

10.04.2002 FR 0204464

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

04.11.2015

73 Titular/es:

**VAXCONSULTING (100.0%)
66, avenue des Champs Elysées
75008 Paris, FR**

72 Inventor/es:

ZAGURY, JEAN-FRANÇOIS

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 550 030 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

Péptidos y su aplicación en terapéutica

La presente invención se refiere a péptidos derivados de citoquinas en forma ciclizada y a su aplicación en terapéutica para la preparación de vacunas.

- 5 La inmunización activa anti-citoquina es una estrategia de inmunoterapia activa desarrollada desde 1990 por Zagury et al., que se basa principalmente en la solicitud de patente WO 92/22577.

Esta idea ha sido recogida por varios equipos científicos que han publicado en revistas científicas internacionales inmunizaciones activas contra la proteína completa $IFN\alpha$, multimerizada por tratamiento con glutaraldehído (Gringeri et al., *JAIDS* 1999; 20:358-70), una proteína $TNF\alpha$ quimérica que consiste en el acoplamiento de la proteína natural $TNF\alpha$ con un epítipo T de la ovalbúmina (Dalum et al., *Nature Biotechnology*, 1999; 17:666-69), contra la IL9 completa acoplada a KLH (Richard et al., *PNAS*, 2000; 97:767-72) o incluso la IL5 completa quimérica con un epítipo T de toxina tetánica (Hertz et al., *J. Immunol*, 2001; 167:3792-99).

10 Estos métodos han confirmado la factibilidad de inmunizaciones autólogas anti-citoquinas, pero algunos de estos éxitos ocultan ensayos infructuosos descritos por algunos autores: algunas citoquinas no permiten obtener anticuerpos suficientemente protectores y con efecto clínico, y la misma citoquina preparada de forma eficaz de una manera no lo será de otra (Richard et al., *PNAS*, 2000; 97:767-72).

15 Tratando de explicar este fenómeno, la firma solicitante ha observado que hasta ahora todos los autores han utilizado citoquinas completas (eventualmente, ligeramente modificadas), lo que conlleva dificultades, principalmente en los siguientes niveles:

- 20 - dilución del poder inmunógeno de los determinantes antigénicos de interés (para las respuestas B y T)
- posible génesis de anticuerpos producidos *in vivo* (respuesta B).

Por lo tanto, sería deseable disponer de antígenos que permitieran obtener anticuerpos suficientemente protectores frente a citoquinas, y que limitaran su actividad.

25 El documento WO-A-98/51705 describe péptidos de RANTES humana, $MIP1\alpha$ y $MIP1\beta$, comprendidos entre la segunda y la tercera cisteína de estas quimioquinas que se unen al co-receptor CCR5.

El documento WO-A-98/34631 describe péptidos procedentes de cadenas γ de receptores de citoquinas utilizados para bloquear la fijación de la citoquina o la activación del receptor.

El documento WO-A-94/01457 describe péptidos de la $IFN\alpha$ utilizados como sustancias portadoras de compuestos farmacéuticos.

30 El documento EP-A-0218531 describe péptidos de IL1 utilizados para la preparación de anticuerpos.

El documento WO-A-00/53219 describe la administración de composiciones que contienen péptidos derivados de factores de crecimiento en la prevención y tratamiento del cáncer.

El documento WO-A-90/06946 describe la utilización de péptidos derivados de $TNF\alpha$ como agentes terapéuticos.

El documento US-A-6117947 describe la preparación de bancos de análogos de péptidos con esqueleto ciclizado.

35 La invención es definida por las reivindicaciones.

Debido a su longitud, los péptidos de citoquina, según la invención, corresponden a un número limitado de epítopos de la citoquina, en general a uno o dos epítopos de la citoquina, y están, en consecuencia, desprovistos de otros numerosos epítopos que ellas contienen.

40 Por "citoquina" se entiende tanto las citoquinas verdaderas, como las citoquinas quimio-atractivas, también denominadas quimioquinas. Se prefieren las citoquinas humanas. La expresión "que interactúan" significa que estos anticuerpos, por ejemplo, bien porque reconocen la proteína natural como se puede demostrar por un ensayo inmunológico (ELISA, transferencia de Western), bien porque bloquean la unión de la citoquina a su receptor como se puede demostrar por un ensayo de actividad biológica o por un ensayo de competencia bioquímica, tienen un efecto clínico beneficioso *in vivo*.

45 Los péptidos de citoquina según la invención proceden o se derivan de una citoquina. Por el término "proceden" se entiende que su secuencia de aminoácidos es idéntica a la de la citoquina. Por la expresión "se derivan de" se entiende que su secuencia de aminoácidos es mayoritariamente idéntica a la de la citoquina, pero presenta algunas diferencias como se explicará a continuación.

5 Al menos un aminoácido de los péptidos de citoquina de la invención y preferiblemente dos aminoácidos consecutivos, posee(n) uno de sus átomos separado por menos 5 angstroms de un átomo del receptor correspondiente a dicha citoquina. Está ventajosamente separado menos de 4,5 angstroms, principalmente separado menos de 4 angstroms y particularmente separado menos de 3,5 angstroms de un átomo del receptor correspondiente a dicha citoquina.

En general el átomo afectado del aminoácido se encuentra en la cadena lateral de dicho aminoácido.

En condiciones preferidas de aplicación de la invención 2, en particular 3, y preferiblemente 4 aminoácidos consecutivos del péptido de citoquina responden a este mismo criterio de separación.

10 Esta separación se evalúa por datos estructurales, por ejemplo, de cristalografía, o incluso por RMN que da resultados similares a las medidas cristalográficas.

Los péptidos de citoquina anteriores constan ventajosamente de más de 8, principalmente más de 10, particularmente más de 12 y más particularmente más de 15 aminoácidos.

15 En otras condiciones preferidas de aplicación de la invención, los péptidos de citoquina anteriores constan de menos de 35, ventajosamente menos de 30, principalmente menos de 25 y particularmente menos de 20 aminoácidos. Generalmente, las secuencias más cortas corresponden a péptidos que contienen un solo grupo de al menos dos aminoácidos consecutivos que constan de al menos uno de sus átomos separados por menos de 5 angstroms de un átomo del receptor correspondiente a dicha citoquina, mientras que las secuencias más largas corresponden en general a s péptidos según la invención que contienen dos o incluso tres grupos o más de tales aminoácidos consecutivos. En efecto, estos grupos pueden estar separados por varios, por ejemplo, 10 aminoácidos como en el caso de IL1 β .

20 Entre los péptidos de citoquina anteriores, se retienen principalmente uno o varios péptidos elegidos entre, o procedentes, de los que tiene los nombres siguientes:

- hIL1 β (Interleuquina 1 beta humana) 123-STSQAENMPV-132 (SEQ ID N° 3)
- hvEGF (Factor de crecimiento endotelial vascular humano) 73-IMRIKPHQGQHIGEMS-88 (SEQ ID N° 4)
- hTNF α (Factor de necrosis tumoral humano alfa) 80-ISRIAVSYQTKVNLLS-95 (SEQ ID N° 6) 124-FQLEKGDRLSAEINR-138 (SEQ ID N° 7)
- hIFN γ (Interferon humano gamma) 1-MQDPYVKEAENLKKYFNAGHSDVADNGTLFLGILKN-36 (SEQ ID N° 8) 118-MAELSPAAGTKRKR-133 (SEQ ID N° 9)
- hIL10 (Interleuquina 10 humana) 20-PNMLRDLRDAFSRVKTFQMKDQLDNLK-50 (SEQ ID N° 10)
- hIL4 (Interleuquina 4 humana) 5-ITLQEIITLNSL-17 (SEQ ID N° 11)
- hIL12p40 (sub-unidad p40 de la interleuquina 12 humana) 135-KSSRGSSDPQG-145 (SEQ ID N° 14)
- hIP10 (Proteína inducible por interferón gamma humano) 39-VEIATMKKKGKRCNLPESKA-60 (SEQ ID N° 18)
- hIL5 (Interleuquina 5 humana) 1-IPTSALVKETLALLSTHRTLLIANET-26 (SEQ ID N° 19)

- hTGFβ2 (Factor de crecimiento transformante humano beta de tipo 2) 87-TILYYIGKTPKIEQ –100 (SEQ ID N° 22)
- hIL6 (Interleuquina 6 humana) 114-RAVQMSTKVLILQFLQKKAKNLDAITTPDPTTNASLL-149 (SEQ ID N° 26)
- hMIP1α (Proteína alfa inflamatoria de macrófagos humanos) 51-ADPSEEWWQKYVSDLELSA –69 (SEQ ID N° 27)
- hMIP1β (Proteína beta inflamatoria de macrófagos humanos) 52-ADPSESWVQEYVYDLELN-69 (SEQ ID N° 28)
- hIL13 (Interleuquina 13 humana) 57-CSAIEKTQRMLSGFCPHKVSAGQFSS-82 (SEQ ID N° 30)
- hIL23 (Interleuquina 23 humana) 115-LLPDSVPGQLHASLLGLSQ-133 (SEQ ID N° 32)
- hRANTES (regulada en seres humanos por activación de linfocitos T normales expresados) 51-ANPEKKWVREYINSLEMS-68 (SEQ ID N° 34)

Se retienen más particularmente los siguientes péptidos:

- 123-STSQAEENMPV-132 de hIL1β
- 73-IMRIKPHQGQHIGEMS de hvEGF
- 5 - 1-MQDPYVKEAENLKKYFNAGHSDVADNGTLFLGILKN-36 de hIFNγ
- 20-PNMLRDLRDAFSRVKTFQMKDQLDNLKE-50 de hIL10

10 Como es conocido por los expertos en la inmunología, son posibles modificaciones de las cadenas peptídicas naturales sin por ello modificar la naturaleza de las propiedades inmunológicas de los péptidos inmunógenos. Por tanto, se pueden citar igualmente los derivados de péptidos de citoquina que son altamente homólogos de estas secuencias naturales, por ejemplo que tienen más de 80% de homología o incluso más de 90% de homología con el péptido natural correspondiente, conservando al mismo las propiedades inmunológicas de este sitio epitópico del péptido natural. Su zona de homología puede variar de 5 a 40 residuos, por ejemplo de 8 a 40 residuos, o incluso de 8 a 35 residuos, preferiblemente de 10 a 35 residuos, pero también de 12 a 35 residuos, principalmente de 12 a 30 residuos, en particular de 15 a 30 residuos y más particularmente de 15 a 25 residuos.

15 Los derivados de los péptidos de citoquina pueden contener residuos modificados, con la condición de que las modificaciones no disminuyan sensiblemente la inmunogenicidad, bien por adición de radicales químicos (metilo, acetilo, etc.) o bien por modificación estereoquímica (uso de aminoácidos de la serie D). Los derivados peptídicos de citoquina deben inducir, como los péptidos de citoquina, anticuerpos que interactúan con la citoquina.

20 Los derivados peptídicos de citoquina según la invención pueden constar de una o varias modificaciones en los aminoácidos de los que están constituidos, tales como deleciones, sustituciones, adiciones o funcionalizaciones (tales como acilación) de uno o varios aminoácidos, en la medida en la que estas modificaciones permanecen en el ámbito precisado antes (caracteres inmunológicos). Por ejemplo, en general la sustitución de un residuo de leucina por un residuo de isoleucina no modifica dichas propiedades; las modificaciones deben afectar en general a menos del 40% de los aminoácidos, principalmente a menos de 30%, preferiblemente a menos de 20% y más particularmente a menos de 10% de los aminoácidos del péptido natural. Es importante que los anticuerpos inducidos por los péptidos modificados sean activos frente a la citoquina natural.

30 Estas modificaciones están al alcance de los expertos en la técnica que pueden verificar la incidencia de las modificaciones por ensayos sencillos. La inmunogenicidad de dichos derivados modificados se puede evaluar por ELISA después de la inmunización de ratones, siendo el antígeno ensayado por ELISA la citoquina completa o el péptido de citoquina inmunizante, o por ensayos de bloqueo de la unión citoquina-receptor. Las eventuales modificaciones afectan preferiblemente a menos de 8 aminoácidos, ventajosamente a menos de 6 aminoácidos, principalmente a menos de 4 aminoácidos, y particularmente a 3 aminoácidos o menos, como 2 o 1 solo aminoácido.

- La invención tiene asimismo por objeto un compuesto caracterizado porque contiene al menos un péptido de citoquina o derivado del péptido de citoquina anterior. Dicho compuesto puede comprender repeticiones de péptidos/derivados idénticos, o combinaciones de péptidos/derivados diferentes, ya sea en forma lineal o en forma de estructura en candelabro o de acoplamientos mixtos a proteínas portadoras. Dicho compuesto puede asimismo presentarse en forma ciclizada. Así, péptidos de citoquina o los derivados peptídicos de citoquina según la invención pueden, por ejemplo, ser insertados en secuencias más largas de aminoácidos, dando principalmente una mejor conformación, o ser combinados con epítomos T exógenos (ya sea para inmunizaciones proteicas o por ADN).
- Ventajosamente, pueden ser asociados de manera covalente a proteínas portadoras, como, por ejemplo KLH.
- Como se ha observado, los péptidos de citoquina según la invención corresponden en general a un pequeño número de epítomos de la citoquina. Cuando están principalmente insertados, combinados o asociados, los compuestos anteriores no comprenden otros epítomos de dicha citoquina.
- Estos péptidos de citoquina o derivados de citoquina podrán ser incluidos en cualquier secuencia de proteína que no comprenda ninguna homología con otros epítomos de la citoquina natural. Por ejemplo, podrán ser los sitios de unión al receptor, en cuyos extremos se añade simplemente una cisteína para conferir al péptido una estructura cíclica. Otro ejemplo es un péptido rodeado de secuencias de epítomos T de la toxina tetánica. Incluso otro ejemplo podrá comprender un péptido correspondiente a la secuencia del sitio de unión al receptor, pero en el que algunos aminoácidos están sustituidos por sus isómeros de serie D con el fin de evitar su efecto agonista. En efecto, podrá ser eventualmente ventajoso utilizar derivados peptídicos que no tengan actividad agonista sobre el receptor con el fin de que el inmunógeno o no pueda interferir con la respuesta inmunitaria.
- Con el fin de aumentar la respuesta inmunitaria, estos péptidos de citoquina o derivados de citoquina podrán ser acoplados a proteínas portadoras. Los métodos de acoplamiento y la proteína portadora considerados podrán ser diferentes según el péptido diana: podrá tratarse, por ejemplo, de la proteína hemocianina de lapa californiana (KLH) y toxoide del tétanos (TT) conjugados a los péptidos por métodos químicos bien conocidos por los expertos en la técnica, como los de acoplamiento por carbodiimida, o por glutaraldehído o por bencidina bis-dinitrogenada. La realización de estos acoplamientos podrá ser facilitada por la adición o incorporación de aminoácidos a la secuencia, como por ejemplo, lisinas, histidinas, tirosinas o cisteínas. Dichos compuestos peptídicos acoplados a un epítomo T exógeno (que provienen de *Plasmodium falciparum*, de KLH, etc.), ya sea de manera química o de manera genética están también dentro del alcance de la invención.
- También se pueden aplicar acoplamientos en red de tipo candelabro o a moléculas tales como transferrina o ferritina para estimular eficazmente la respuesta inmunitaria.
- Los péptidos según la invención pueden ser principalmente producidos por síntesis química o por ingeniería genética o por cualquier otro método adaptado. La síntesis de péptidos cíclicos, injertando en caso necesario uno o más aminoácidos al final de cadena como cisteínas para crear un puente disulfuro, permite encontrar una parte de la estructura secundaria que estos fragmentos peptídicos poseen en la estructura tridimensional de la proteína.
- Los péptidos de citoquina, derivados de citoquina, y sus compuestos según la invención, poseen propiedades farmacológicas muy interesantes. Están provistos principalmente de propiedades anticitoquinas notables. En efecto, son inmunógenos y capaces de generar en un sujeto anticuerpos que reconocen la citoquina natural. Estos péptidos no contienen los otros numerosos epítomos que proceden de la citoquina correspondiente.
- Estas propiedades están ilustradas a continuación en la parte experimental. Justifican el uso como medicamentos de los péptidos antes descritos.
- El hecho de limitarse a estos péptidos próximos al sitio de unión al receptor, con exclusión de otros epítomos de citoquinas, confiere principalmente la ventaja de limitar la generación de anticuerpos que faciliten o que potencien la actividad de las citoquinas. Además, permiten aumentar la calidad de la inmunización anti-citoquina debido a que se limita el número de determinantes antigénicos dianas.
- Los medicamentos según la presente invención encuentran uso, por ejemplo, en el tratamiento tanto curativo como preventivo de enfermedades relacionadas con alteraciones del sistema inmunitario que impliquen sobreproducciones de citoquinas, como por ejemplo las enfermedades autoinmunitarias (que comprenden entre otras esclerosis en placas, poliartritis reumatoide, psoriasis, diabetes autoinmunitaria, lupus), alergia o asma, cánceres o SIDA. Así, está claro que la lucha contra IL1 β o TNF α puede ser útil en la poliartritis reumatoide, la lucha contra IFN γ , IL18, IL23 o IL12 puede ser útil en la lucha contra la esclerosis en placas o la diabetes autoinmunitaria, la lucha contra IL4, IL5 e IL13 puede ser útil contra la alergia o el asma, la lucha contra IL10 o vEGF puede ser útil contra ciertos cánceres. Más generalmente, las alteraciones Th1/Th2 que dirigen la respuesta inmunitaria en sí y que hacen intervenir clásicamente a IL12, IL2, IL4, IL6, IL10, IL13, IFN γ , TNF α se podrán beneficiar de un reajuste del equilibrio por inmunización activa. Son sólo algunos ejemplos, y la invención tiene asimismo por objeto cualquier tratamiento del cuerpo humano, basado en una inmunización activa (ADN o péptido) que implique las secuencias peptídicas antes mencionadas, con exclusión de otros epítomos de las citoquinas. Estas secuencias podrán ser modificadas como se indica en la presente descripción, y las inmunizaciones por ADN se harán por simple traducción del código genético.

La respuesta inmunitaria humoral podrá ser evaluada por ensayos ELISA o ensayos que muestren la inhibición de la unión de la citoquina natural a su receptor. La respuesta celular podrá ser evaluada en presencia de ensayos de proliferación celular frente al péptido utilizado.

Los principios activos inmunógenos según la invención se pueden utilizar de la manera siguiente:

- 5 Se administra a un paciente un péptido de citoquina o derivado de citoquina o compuesto inmunógeno según la presente invención, por ejemplo por vía subcutánea o intramuscular, en cantidad suficiente para que sea eficaz en el plano terapéutico, a un sujeto que tenga necesidad de dicho tratamiento. La dosis administrada puede ser, por ejemplo, de 1 a 1000 μg , principalmente de 10 a 500 μg por vía subcutánea, una vez al mes durante tres meses, y después periódicamente en función del porcentaje de anticuerpos séricos inducidos, por ejemplo cada 2-6 meses.
- 10 Se podrán administrar en una misma preparación dos o varias moléculas inmunógenas diferentes para inducir anticuerpos que neutralicen todos los sitios funcionales perjudiciales en el caso en el que una sola molécula inmunógena no lleve todos los sitios activos de la citoquina sobreproducida que se desea neutralizar.

La invención tiene por objeto vacunas que contengan, como principio activo, al menos un péptido de citoquina o derivado de citoquina o compuesto inmunógeno antes citado.

- 15 Como medicamentos un péptido de citoquina o derivado de citoquina o compuesto inmunógeno de la invención se puede incorporar en composiciones farmacéuticas destinadas a cualquier vía convencional de uso en el campo de las vacunas, en particular por vía subcutánea, por vía intramuscular, por vía intravenosa o por vía oral. La administración puede tener lugar en dosis única o repetidas una o más veces después de un cierto intervalo de tiempo.
- 20 El agente inmunógeno puede estar acondicionado solo o mezclado con un excipiente o mezcla de excipientes farmacéuticamente aceptables, tal como un adyuvante. La presente solicitud tiene más particularmente por objeto una vacuna que contiene como inmunógeno un péptido de citoquina o derivado de citoquina o compuesto inmunógeno anteriormente citado.

- 25 La presente invención tiene incluso por objeto un procedimiento de preparación de una composición descrita anteriormente, caracterizado porque se mezcla, según métodos en sí conocidos, el o los principios activos con excipientes aceptables, principalmente farmacéuticamente aceptables.

La administración a un paciente de un péptido de citoquina o derivado de citoquina o compuesto inmunógeno, según la invención, corresponde a una inmunoterapia activa. Igualmente puede ser interesante proceder a una inmunoterapia pasiva, es decir, suministrar a un paciente directamente los anticuerpos que necesite.

- 30 Las preparaciones vacunales podrán ser acondicionadas para la vía intranasal en forma de gel con carbopol como excipiente, de gotas nasales o de pulverización, y para la vía oral en forma de cápsulas gastro-resistentes, grageas o gránulos gastro-resistentes.

- 35 En el caso de vacuna de ADN administrada por vía sistémica o mucosal, la presentación galénica del plásmido podrá ser una suspensión en un líquido fisiológico, tal como el PBS fisiológico (PBS = tampón de fosfato). Los plásmidos podrán estar incluidos en microesferas de polímeros biodegradables (PLG, PLA, PCL) y administradas en cápsulas gastro-resistentes para ingestión (vía oral). El ADN podrá igualmente ser expresado en un vector vivo bacteriano, de tipo *Salmonella* o viral de tipo adenovirus o poxvirus.

- 40 La presente solicitud tiene finalmente por objeto un procedimiento de inmunización activa de pacientes, caracterizado porque se utiliza como inmunógeno un péptido de citoquina o derivado de citoquina o compuesto inmunógeno, tal como se han descritos anteriormente, asociado ventajosamente a un adyuvante de la inmunidad mineral, oleoso o de síntesis.

- 45 Las inmunizaciones podrán hacerse clásicamente, en particular, por péptidos o compuestos inmunógenos, como conjugados, preferiblemente en presencia de un adyuvante, por ejemplo ISA 51 o Alun. Las inmunizaciones podrán realizarse a base de ADN (secuencias homólogas de los sitios de unión combinadas con epítomos T exógenos) utilizando ADN desnudo o un vector de expresión que contenga un promotor adaptado, como por ejemplo, pCR3.1. Los ADN administrados podrán estar protegidos de las nucleasas por el uso de radicales adecuados (CpG, etc.). Principalmente podrá ir seguido por una inmunización inicial por ADN por recuerdos clásicos con ayuda de compuestos peptídicos.

- 50 Las condiciones preferidas de realización de los péptidos descritos anteriormente se aplican igualmente a los demás objetos de la invención indicados anteriormente.

La figura 1 y la figura 2, que es una ampliación de la figura 1, representan la estructura cristalográfica del péptido que procede de IL10 en contacto con su receptor. Se distingue la citoquina IL10 (a la izquierda) en contacto con su receptor (a la derecha).

En la figura 2, se puede observar que los aminoácidos marcados en negro están separados por menos de 4

angstroms (d = punteado entre dos bolas negras). Corresponden de abajo a arriba a las parejas: 192IL10R serina frente a 28IL10 ácido aspártico (3,18 Å), 100IL10R ácido aspártico y 101IL10R ácido glutámico frente a 34IL10 lisina (3,83 Å y 3,84 Å), y 94IL10R asparagina frente a 39IL10 metionina (3,70 Å). Para cada aminoácido, se ha determinado un punto central que es el baricentro del carbono alfa del aminoácido considerado, el extremo de la cadena lateral y un tercer punto seleccionado que es el más extremo de los dos anteriores en la cadena lateral. La distancia d medida es la distancia que separa los puntos centrales de los aminoácidos respectivamente de la citoquina y de su receptor. Evidentemente se pueden definir las distancias utilizando otros métodos habituales.

Los ejemplos siguientes ilustran la presente invención.

Ejemplo 1:

- 10 Se sintetizó el péptido KLHLQGQDMEQQ (SEQ ID N° 37) a partir de la secuencia de IL1β humana, se añadió el residuo K a la secuencia natural para permitir una unión a la KLH por acoplamiento con ayuda de glutaraldehído.

Se inmunizaron cinco ratones en presencia del adyuvante ISA51. Para la primera inyección realizada el día 0 (D0), se preparó una emulsión de 40 µg de inmunógeno en una cantidad de ISA51 suficiente para preparar 100 µl de emulsión. Para el recuerdo los D21 y D40, se prepararon 100 µl de emulsión que contenían 20 µg de inmunógeno.

- 15 Se inmunizaron en paralelo cinco ratones, como controles, con KLH en el mismo adyuvante.

El D60, se extrajo suero y se realizaron ensayos ELISA con la citoquina natural para revelar la presencia de anticuerpos.

La absorbancia media obtenida para cada ratón se presenta en la tabla siguiente:

Ratón	1	2	3	4	5	Media
Péptido	1,34	0,08	1,86	0,90	1,56	1,15
Control	0,05	0,11	0,08	0,12	0,06	0,08

- 20 La existencia de anticuerpos que neutralizan la citoquina natural pudo ser evaluada de la manera siguiente: 20 unidades de citoquina IL1β natural se preincubaron con suero de ratón (inmunizado o de control) diluido 1/100 a 1/2000 durante 2 horas a 37°C. El conjunto se añadió luego a células EL4, dispuestas 50.000 células por micropocillo. La producción de IL2 se evaluó después de 24 horas en el líquido sobrenadante por un ensayo ELISA sándwich (R&D Diagnostics). El porcentaje de inhibición de la producción de IL2 indica el porcentaje de neutralización de IL1β. Tal como se puede ver, se observan respuestas para los ratones inmunizados pero no para los controles.

- 25

Ratón	1	2	3	4	5	Media
Péptido	52%	25%	93%	86%	8%	52%
Control	8%	-5%	11%	5%	12%	6%

Ejemplo 2:

- 30 Se inmunizaron 5 ratones con el péptido de síntesis procedente de vEGF humano: KPHQGQHIGEMS. (SEQ ID N° 38). Este péptido se acopló a la proteína portadora KLH por reacción con glutaraldehído. Después de inmunización en las mismas condiciones que en el Ejemplo 1, se extrajo suero de D60 y se realizaron ensayos ELISA con la citoquina natural para revelar la presencia de anticuerpos.

La absorbancia media obtenida para cada ratón se presenta en la tabla siguiente:

Ratón	1	2	3	4	5	Media
Péptido	1,50	1,00	0,86	0,98	1,63	1,19
Control	0,05	0,13	0,07	0,10	0,08	0,09

Ejemplo 3:

5 Se inmunizaron 5 ratones con el péptido de síntesis procedente de $TNF\alpha$ humano que es: KYQAEGQLQWLNRRANALLANGVELRDNQL (SEQ ID N° 39). Este péptido se acopló a la proteína portadora KLH por reacción con diazobencidina. A la secuencia natural se añadieron los residuos K e Y para permitir una unión a la KLH por acoplamiento con ayuda de glutaraldehído. Después de la inmunización en las mismas condiciones que en el Ejemplo 1, se extrajo suero el D60 y se realizaron ensayos ELISA con la citoquina natural para revelar la presencia de anticuerpos.

La absorbancia media obtenida para cada ratón se presenta en la tabla siguiente:

Ratón	1	2	3	4	5	Media
Péptido	1,64	1,14	1,96	1,02	0,78	1,31
Control	0,11	0,16	0,09	0,11	0,18	0,13

10 La existencia de anticuerpos que neutralizan la citoquina natural pudo ser evaluada de la manera siguiente: 50 unidades de citoquina $TNF\alpha$ natural se pre-incubaron con suero de ratón (inmunizado o de control) diluido a 1/200 durante 2 horas a 37°C. El conjunto se añadió luego a células EL929 dispuestas, 25.000 células por micropocillo. La lisis de las células se evaluó después de 24 horas por coloración con naftol azul negro (Sigma). El porcentaje de inhibición de la lisis indica el porcentaje de neutralización del $TNF\alpha$, y como se puede ver, se observan respuestas para los ratones inmunizados pero no para los controles.

Ratón	1	2	3	4	5	Media
Péptido	88%	12%	93%	36%	79%	61%
Control	5%	6%	14%	5%	1%	6%

Ejemplo 4:

20 Se inmunizaron 5 ratones con el péptido procedente de $IFN\gamma$ humano que es: KKYFNAGHSDVADNGTLFLGILKN (SEQ ID N° 40). Este péptido se sintetizó químicamente en forma de MAPS. Este péptido MAPS se acopló luego a la proteína portadora toxoide del tétano por reacción con glutaraldehído. Después de inmunización en las mismas condiciones que en el Ejemplo 1, se extrajo suero el D60 y se realizaron ensayos ELISA con la citoquina natural para revelar la presencia de anticuerpos.

La absorbancia media obtenida para cada ratón se presenta en la tabla siguiente:

Ratón	1	2	3	4	5	Media
Péptido	1,56	1,05	0,98	1,80	1,64	1,41
Control	0,10	0,12	0,23	0,08	0,09	0,12

25 La existencia de anticuerpos que neutralizan la citoquina natural pudo ser evaluada de la manera siguiente: 100 unidades de citoquina natural se pre-incubaron con suero de ratón (inmunizado o de control), diluido 1/250 durante 2 horas a 37°C. El conjunto se añadió luego a células RAW264.7, dispuestas 300.000 células por pocillo de 2 mL. Después de 24 horas se evaluó la expresión de CMH de clase II sobre las células por citometría de flujo, por marcaje con anticuerpos anti-CMH de clase II acoplados a fluoresceína. El porcentaje de inhibición de la expresión de CMH de clase II indica el porcentaje de neutralización de $IFN\gamma$, y como se puede ver, se observan inhibiciones para los ratones inmunizados pero no para los controles. El umbral de significación para estos experimentos es 30%.

Ratón	1	2	3	4	5	Media
Péptido	40%	89%	67%	38%	83%	63%
Control	25%	14%	-10%	29%	7%	13%

Ejemplo 5:

5 Se inmunizaron 5 ratones con el péptido procedente de IL10 humana que es: DECNML RDLRDAFSRVKTFQMKDQLDNC (SEQ ID N° 41). Este péptido se sintetizó químicamente, y se añadió una cisteína a cada extremo con el fin de obtener un péptido cíclico. Este péptido se acopló luego a la proteína portadora KLH por reacción con carbodiimida. También se añadió el residuo DE a la secuencia natural para permitir una unión a la KLH por reacción con carbodiimida. Después de inmunización en las mismas condiciones que en el Ejemplo 1, se extrajo suero el D60 y se realizaron ensayos ELISA con la citoquina natural para revelar la presencia de anticuerpos.

La absorbancia media obtenida para cada ratón se presenta en la tabla siguiente:

Ratón	1	2	3	4	5	Media
Péptido	1,94	0,96	1,85	0,97	1,5	1,44
Control	0,29	0,52	0,17	0,26	0,36	0,32

10

Ejemplo 6:

15 Se inmunizaron 5 ratones con el péptido correspondiente a IL4 humana que es: KQLIRFLKRLDRNLWGLAG (SEQ ID N° 42). Este péptido se acopló a la proteína portadora KLH por reacción con glutaraldehído. Después de inmunización en las mismas condiciones que en el Ejemplo 1, se extrajo suero el D60 y se realizaron ensayos ELISA con la citoquina natural para revelar la presencia de anticuerpos.

La absorbancia media obtenida para cada ratón se presenta en la tabla siguiente:

Ratón	1	2	3	4	5	Media
Péptido	1,06	1,25	0,95	0,87	1,24	1,07
Control	0,34	0,09	0,26	0,16	0,12	0,19

Ejemplo 7:

20 Se inmunizaron 5 ratones con el péptido correspondiente a IL12p40 humana que es: KKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFRLRCE (SEQ ID N° 43). Este péptido se acopló a la proteína portadora toxoide de tétanos por reacción con bencidina bis-dinitrogenada (diazó). Después de inmunización en las mismas condiciones que en el Ejemplo 1, se extrajo suero el D60 y se realizaron ensayos ELISA con la citoquina natural para revelar la presencia de anticuerpos.

La absorbancia media obtenida para cada ratón se presenta en la tabla siguiente:

Ratón	1	2	3	4	5	Media
Péptido	0,95	1,06	1,58	1,14	0,87	1,12
Control	0,06	0,12	0,09	0,05	0,09	0,08

25

Ejemplo 8:

30 Se inmunizaron 5 ratones con el péptido procedente de IL18 humana que es: KYFGKLESKLSVIRNLNDQVLFID (SEQ ID N° 44). Este péptido se acopló a la proteína portadora KLH por reacción con glutaraldehído. El residuo K se añadió a la secuencia natural para permitir una unión a la KLH por acoplamiento con la ayuda de glutaraldehído. Después de inmunización en las mismas condiciones que en el Ejemplo 1, se extrajo suero el D60 y se realizaron ensayos ELISA con la citoquina natural para revelar la presencia de anticuerpos.

La absorbancia media obtenida para cada ratón se presenta en la tabla siguiente:

Ratón	1	2	3	4	5	Media
Péptido	1,85	1,13	0,99	1,24	1,54	1,35
Control	0,31	0,09	0,27	0,16	0,24	0,21

Ejemplo 9:

- 5 Se inmunizaron 5 ratones con el péptido sintético procedente de IP10 humana que es: KKKGEKRCLNPESKA (SEQ ID N° 45). Este péptido se acopló a la proteína portadora toxoide de tétanos por reacción con glutaraldehído. Los tres residuos K presentes en la secuencia natural permiten una unión a la KLH por acoplamiento con ayuda de glutaraldehído. Después de inmunización en las mismas condiciones que en el Ejemplo 1, se extrajo suero el D60 y se realizaron ensayos ELISA con la citoquina natural para revelar la presencia de anticuerpos.

La absorbancia media obtenida para cada ratón se presenta en la tabla siguiente:

Ratón	1	2	3	4	5	Media
Péptido	1,16	0,98	1,24	1,09	0,88	1,07
Control	0,32	0,21	0,11	0,20	0,09	0,19

10

Ejemplo 10:

- 15 Se inmunizaron 5 ratones con el péptido correspondiente a IL5 humana que es: KLQEFLGVMNTEWI (SEQ ID N° 46). Este péptido se acopló a la proteína portadora KLH por reacción con glutaraldehído. El residuo K se añadió a la secuencia natural para permitir una unión a la KLH por acoplamiento con ayuda de glutaraldehído. Después de inmunización en las mismas condiciones que en el Ejemplo 1, se extrajo suero el D60 y se realizaron ensayos ELISA con la citoquina natural para revelar la presencia de anticuerpos.

La absorbancia media obtenida para cada ratón se presenta en la tabla siguiente:

Ratón	1	2	3	4	5	Media
Péptido	1,25	1,21	1,87	1,10	0,88	1,26
Control	0,51	0,21	0,42	0,09	0,38	0,32

Ejemplo 11:

- 20 Se inmunizaron 5 ratones con el péptido correspondiente al TGFβ2 humano que es: DTILYYIGKTPKIE (SEQ ID N° 47). Este péptido se acopló a la proteína portadora KLH por reacción con carbodiimida. El residuo D se añadió a la secuencia natural para permitir un unión por acoplamiento. Después de inmunización en las mismas condiciones que en el Ejemplo 1, se extrajo suero el D60 y se realizaron ensayos ELISA con la citoquina natural para revelar la presencia de anticuerpos.

- 25 La absorbancia media obtenida para cada ratón se presenta en la tabla siguiente:

Ratón	1	2	3	4	5	Media
Péptido	0,95	1,15	0,99	1,17	1,08	1,07
Control	0,40	0,09	0,35	0,26	0,29	0,28

Ejemplo 12:

- 30 Se inmunizaron 5 ratones con el péptido correspondiente a la IL6 humana que es: KQIRYILDGISA (SEQ ID N° 25). Este péptido se acopló a la proteína portadora TT por reacción con bencidina bis-dinitrogenada (diazot). Después de inmunización en las mismas condiciones que en el Ejemplo 1, se extrajo suero el D60 y se realizaron ensayos ELISA con la citoquina natural para revelar la presencia de anticuerpos.

ES 2 550 030 T3

La absorbancia media obtenida para cada ratón se presenta en la tabla siguiente:

Ratón	1	2	3	4	5	Media
Péptido	1,11	1,27	1,02	1,34	0,32	1,01
Control	0,11	0,15	0,29	0,14	0,21	0,21

Ejemplo 13:

- 5 Se sintetizaron los ADN correspondientes a los péptidos 1-APVRSLNCTL-10 (GCACCTGTACGATCACTGAACTGC ACGCTC) (SEQ ID N° 48), 29-LHLQGQDMEQQ-39 (CTCCACCTCCAGGGACAGGATATGGAGCAACAA) (SEQ ID N° 49) y 123-STSQENMPV-132 (AGCACCTCTCAAGCAGAAAACATGCCCGTC) (SEQ ID N° 50) de la IL1 β y se separaron los epítomos T de la toxina tetánica: AQYIKANSKFIGITEL (SEQ ID N° 55) (CAGTACATCAAGGCT AACTCCAAGTTCATCGGTATCACTGAGCTG) (SEQ ID N° 51) y de la KLH: VDTVVRKNVDSL (GTTGACA CCACCAGAAAAAATGTTGACTCCCTT) (SEQ ID N° 52), por espaciadores GYG(GGCTACGGC) (SEQ ID N° 54). La secuencia nucleotídica final es la siguiente:

```
GTTGACACCACCAGAAAAAATGTTGACTCCCTTGGCTACGGCGCACCTG
TACGATCACTGAACTGCACGCTCGGCTACGGCGTTGACACCACCAGAAA
AAATGTTGACTCCCTTGGCTACGGCCTCCACCTCCAGGGACAGGATATG
GAGCAACAAGGCTACGGCCAGTACATCAAGGCTAACTCCAAGTTCATCG
GTATCACTGAGCTGGGCTACGGCAGCACCTCTCAAGCAGAAAACATGCC
CGTCGGCTACGGCGTTGACACCACCAGAAAAAATGTTGACTCCCTT
```

(SEQ ID N° 53).

- 15 Esta secuencia de ADN, clonada en pRSET-A, codifica por lo tanto un polipéptido compuesto que se produce y purifica por ingeniería genética en forma de proteína de fusión con poli-histidina. Este polipéptido se utiliza como inmunógeno como en el Ejemplo 1.

La respuesta de anticuerpos de ratones se mide frente a IL1 β natural por ELISA y se encuentran los valores siguientes:

Ratón	1	2	3	4	5	Media
Péptido	0,86	0,73	1,68	1,55	1,83	1,33
Control	0,23	0,11	0,21	0,29	0,17	0,20

Ejemplo 14.

- 20 Se sintetizaron los ADNc que corresponden a los péptidos 1-APVRSLNCTL-10 (GCACCTGTACGATCACTGAA CTGCACGCTC) (SEQ ID N° 48), 29-LHLQGQDMEQQ-39 (CTCCACCTCCAGGGACAGGATATGGAGCAACAA) (SEQ ID N° 49) y 123-STSQENMPV-132 (AGCACCTCTCAAGCAGAAAACATGCCCGTC) (SEQ ID N° 50) de la IL1 β y se separaron los epítomos T de la toxina tetánica AQYIKANSKFIGITEL (CAGTACATCAAGGCTAACTCCA AGTTCATCGGTATCACTGAGCTG) (SEQ ID N° 51) y de la KLH: VDTVVRKNVDSL (GTTGACACCACCAGAAAAA TGTTGACTCCCTT) (SEQ ID N° 52) por espaciadores GYG. La secuencia final es la siguiente:

```
GTTGACACCACCAGAAAAAATGTTGACTCCCTTGGCTACGGCGCACCTG
TACGATCACTGAACTGCACGCTCGGCTACGGCGTTGACACCACCAGAAA
AAATGTTGACTCCCTTGGCTACGGCCTCCACCTCCAGGGACAGGATATG
GAGCAACAAGGCTACGGCCAGTACATCAAGGCTAACTCCAAGTTCATCG
GTATCACTGAGCTGGGCTACGGCAGCACCTCTCAAGCAGAAAACATGCC
CGTCGGCTACGGCGTTGACACCACCAGAAAAAATGTTGACTCCCTT
```

(SEQ ID N° 53).

ES 2 550 030 T3

Esta secuencia de ADN, clonada en pCR3.1, codifica por lo tanto un polipéptido IL1 β bajo el control del promotor de CMV.

- 5 Se realizó una primera inyección intramuscular inyectando 100 μ g de vector en una disolución salina de 100 μ L. Se realizaron 2 recuerdos los D21 y D40 con el péptido del Ejemplo 13 (inmunización de tipo ""). El D60 se evaluó la respuesta de anticuerpos por un ensayo ELISA en la citoquina natural en los 5 ratones inmunizados y los 5 ratones de control.

El resultado es el siguiente:

Ratón	1	2	3	4	5	Media
Péptido	1,54	0,35	1,88	1,64	0,24	1,13
Control	0,13	0,11	0,18	0,08	0,23	0,14

Ejemplo 15.

- 10 La vacuna está formada por una emulsión de agua en aceite constituida por 50% de ISA 51 (Tepic, Paris) y 50% de una solución acuosa del péptido del Ejemplo 1 (50 μ g/dosis).

Ejemplo 16: Vacuna a base del inmunógeno plasmídico para vacunación con ADN de tipo sistémico IL10.

Se pusieron en suspensión plásmidos que codifican los péptidos APVRSLNCTL y LHLQGQDMEQQ de IL1 β (20 μ g/dosis) en 0,2 mL de PBS para administración intramuscular.

- 15 Ejemplo 17.

Se preparó una vacuna formada por una emulsión de agua en aceite de 50% de ISA (TEPIC, Paris) y 50% de una solución acuosa del péptido de síntesis KYQAEGLQLWLNRRANALLANGVELRDNQL derivado del TNF α humano acoplado a la KLH (100 μ g/dosis).

Listado de secuencias

<110> Jean-François, ZAGURY

5 <120> Péptidos procedentes de citoquinas y su aplicación en terapéutica

<130> bif022175 pct

<160> 55

10 <170> PatentIn versión 3.2

<210> 1

<211> 10

15 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Ala Pro Val Ala Ser Leu Ala Cys Thr Leu

1 5 10

20

<210>2

<211> 11

<212> PRT

25 <213> Homo sapiens

<400> 2

Leu His Leu Gln Gly Gln Asp Met Glu Gln Gln

1 5 10

30

<210>3

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

35

<400> 3

Ser Thr Ser Gln Ala Glu Asn Met Pro Val

1 5 10

40

<210> 4

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

45

<400> 4

Ile Met Arg Ile Lys Pro His Gln Gly Gln His Ile Gly Glu Met Ser

1 5 10 15

50

<210> 5

<211> 35

<212> PRT

<213> Homo sapiens

55

<400> 5

ES 2 550 030 T3

Pro Gln Ala Glu Gly Gln Leu Gln Trp Leu Asn Arg Arg Ala Asn Ala
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val Val Pro
 20 25 30

Ser Glu Gly
 35

5 <210> 6
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 6

10 Ile Ser Arg Ile Ala Val Ser Tyr Gln Thr Lys Val Asn Leu Leu Ser
 1 5 10 15

15 <210> 7
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 7

20 Phe Gln Leu Glu Lys Gly Asp Arg Leu Ser Ala Glu Ile Asn Arg
 1 5 10 15

25 <210> 8
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 8

Met Gln Asp Pro Tyr Val Lys Glu Ala Glu Asn Leu Lys Lys Tyr Phe
 1 5 10 15

Asn Ala Gly His Ser Asp Val Ala Asp Asn Gly Thr Leu Phe Leu Gly
 20 25 30

Ile Leu Lys Asn
 35

30 <210> 9
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35 <400> 9

Met Ala Glu Leu Ser Pro Ala Ala Lys Thr Gly Lys Arg Lys Arg Ser
 1 5 10 15

<210> 10

ES 2 550 030 T3

<211> 31
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5 <400> 10

Pro Asn Met Leu Arg Asp Leu Arg Asp Ala Phe Ser Arg Val Lys Thr
 1 5 10 15

Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp Asn Leu Leu Leu Lys Glu
 20 25 30

10 <210> 11
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15 <400> 11

Ile Thr Leu Gln Glu Ile Ile Lys Thr Leu Asn Ser Leu
 1 5 10

20 <210> 12
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 12

Ala Gln Gln Phe His Arg His Lys Gln Leu Ile Arg Phe Leu Lys Arg
 1 5 10 15

25 Leu Asp Arg Asn Leu Trp Gly Leu Ala Gly
 20 25

30 <210> 13
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 13

Leu Leu Leu His Lys Lys Glu Asp Gly Ile Trp Ser Thr Asp Ile Leu
 1 5 10 15

35 Lys Asp Gln Lys Glu Pro Lys Asn Lys Thr Phe Leu Arg Cys Glu
 20 25 30

40 <210> 14
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 14

Lys Ser Ser Arg Gly Ser Ser Asp Pro Gln Gly
 1 5 10

ES 2 550 030 T3

<210> 15
<211> 35
<212> PRT
5 <213> Homo sapiens

<400> 15

Tyr Phe Gly Lys Leu Glu Ser Lys Leu Ser Val Ile Arg Asn Leu Asn
1 5 10 15

Asp Gln Val Leu Phe Ile Asp Gln Gly Asn Arg Pro Leu Phe Glu Asp
20 25 30

Met Thr Asp
35
10

<210> 16
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens
15

<400> 16

Cys Glu Lys Ile Ser Thr Leu Ser Cys Glu Asn
1 5 10

20 <210> 17
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

25 <400> 17

Glu Asp Glu Leu Gly Asp Arg Ser Ile Met Phe Thr Val Gln Asn Glu
1 5 10 15

Asp

30 <210> 18
<211> 24
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 18
35

Val Glu Ile Ile Ala Thr Met Lys Lys Lys Gly Glu Lys Arg Cys Arg
1 5 10 15

Cys Leu Asn Pro Glu Ser Lys Ala

40 <210> 19
<211> 26
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 19

ES 2 550 030 T3

Ile Pro Thr Ser Ala Leu Val Lys Glu Thr Leu Ala Leu Leu Ser Thr
1 5 10 15

His Arg Thr Leu Leu Ile Ala Asn Glu Thr
20 25

<210> 20
<211> 13
5 <212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 20

Leu Gln Glu Phe Leu Gly Val Met Asn Thr Glu Trp Ile
1 5 10

10
<210> 21
<211> 11
<212> PRT
15 <213> Homo sapiens

<400> 21

Lys Arg Asp Leu Gly Trp Lys Trp Ile His Glu
1 5 10

20
<210> 22
<211> 14
<212> PRT
25 <213> Homo sapiens

<400> 22

Thr Ile Leu Tyr Tyr Ile Gly Lys Thr Pro Lys Ile Glu Gin
1 5 10

30
<210> 23
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

35 <400> 23

Ala Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile
1 5 10

40
<210> 24
<211> 36
<212> PRT
<213> Homo sapiens

45 <400> 24

ES 2 550 030 T3

Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu
 1 5 10 15

Leu Glu Lys Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile
 20 25 30

Val Gln Met Phe
 35

5 <210> 25
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 25

10 Lys Gln Ile Arg Tyr Ile Leu Asp Gly Ile Ser Ala
 1 5 10

15 <210> 26
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 26

Arg Ala Val Gln Met Ser Thr Lys Val Leu Ile Gln Phe Leu Gln Lys
 1 5 10 15

Lys Ala Lys Asn Leu Asp Ala Ile Thr Thr Pro Asp Pro Thr Thr Asn
 20 25 30

Ala Ser Leu Leu
 35

20 <210> 27
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

25 <400> 27

Ala Asp Pro Ser Glu Glu Trp Val Gln Lys Tyr Val Ser Asp Leu Glu
 1 5 10 15

Leu Ser Ala

30 <210> 28
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

35 <400> 28

ES 2 550 030 T3

Ala Asp Pro Ser Glu Ser Trp Val Gln Glu Tyr Val Tyr Asp Leu Glu
 1 5 10 15

Leu Asn

5 <210> 29
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 29

10 Thr Ala Leu Arg Glu Leu Ile Glu Glu Leu
 1 5 10

15 <210> 30
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 30

Cys Ser Ala Ile Glu Lys Thr Gln Arg Met Leu Ser Gly Phe Cys Pro
 1 5 10 15

20 His Lys Val Ser Ala Gly Gln Phe Ser Ser
 20 25

25 <210>31
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 31

Gly His Met Asp Leu Arg Glu Glu Gly Asp Glu Glu Thr Thr
 1 5 10

30 <210> 32
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35 <400> 32

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

Leu Ser Gln

40 <210> 33
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

ES 2 550 030 T3

<400> 33

Leu Leu Arg Phe Lys Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Val Ala Val
1 5 10 15

Ala Ala Arg Val
20

5

<210> 34
<211> 18
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10

<400> 34

Ala Asn Pro Glu Lys Lys Trp Val Arg Glu Tyr Ile Asn Ser Leu Glu
1 5 10 15

Met Ser

15

<210> 35
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 35

Arg Arg Thr Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Lys
1 5 10

25

<210> 36
<211> 27
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 36

Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu
1 5 10 15

Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys
20 25

35

<210> 37
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 37

40

Lys Leu His Leu Gln Gly Gln Asp Met Glu Gln Gln
1 5 10

<210> 38
<211> 12
<212> PRT

ES 2 550 030 T3

<213> Homo sapiens

<400> 38

Lys Pro His Gln Gly Gln His Ile Gly Glu Met Ser
1 5 10

5

<210> 39

<211> 30

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 39

Lys Tyr Gln Ala Glu Gly Gln Leu Gln Trp Leu Asn Arg Arg Ala Asn
1 5 10 15

Ala Leu Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu
20 25 30

15

<210> 40

<211> 24

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20

<400> 40

Lys Lys Tyr Phe Asn Ala Gly His Ser Asp Val Ala Asp Asn Gly Thr
1 5 10 15

Leu Phe Leu Gly Ile Leu Lys Asn
20

25

<210> 41

<211> 29

<212> PRT

<213> Homo sapiens

30

<400> 41

Asp Glu Cys Asn Met Leu Arg Asp Leu Arg Asp Ala Phe Ser Arg Val
1 5 10 15

Lys Thr Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp Asn Cys
20 25

35

<210> 42

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

40

<400> 42

ES 2 550 030 T3

Lys Gln Leu Ile Arg Phe Leu Lys Arg Leu Asp Arg Asn Leu Trp Gly
1 5 10 15

Leu Ala Gly

5 <210> 43
<211> 27
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 43

Lys Lys Glu Asp Gly Ile Trp Ser Thr Asp Ile Leu Lys Asp Gln Lys
1 5 10 15

Glu Pro Lys Asn Lys Thr Phe Leu Arg Cys Glu
10 20 25

<210> 44
<211> 24
<212> PRT
15 <213> Homo sapiens

<400> 44

Lys Tyr Phe Gly Lys Leu Glu Ser Lys Leu Ser Val Ile Arg Asn Leu
1 5 10 15

Asn Asp Gln Val Leu Phe Ile Asp
20

20 <210> 45
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

25 <400> 45

Lys Lys Lys Gly Glu Lys Arg Lys Arg Cys Leu Asn Pro Glu Ser Lys
1 5 10 15

Ala

30 <210> 46
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

35 <400> 46

Lys Leu Gln Glu Phe Leu Gly Val Met Asn Thr Glu Trp Ile
1 5 10

40 <210> 47
<211> 14
<212> PRT

ES 2 550 030 T3

<213> Homo sapiens

<400> 47

Asp Thr Ile Leu Tyr Tyr Ile Gly Lys Thr Pro Lys Ile Glu
1 5 10

5

<210> 48

<211> 30

<212> ADN

<213> Homo sapiens

10

<400> 48

gcacctgtac gatcactgaa ctgcacgctc
30

15

<210> 49

<211> 32

<212> ADN

<213> Homo sapiens

20

<400> 49

ctccacctcc aggacaggat atggagcaac aa
32

25

<210> 50

<211> 30

<212> ADN

<213> Homo sapiens

30

<400> 50

agcacctctc aagcagaaaa catgcccgtc
30

35

<210> 51

<211> 45

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 51

cagtacatca aggctaactc caagttcatc ggtatcaactg agctg
45

40

<210> 52

<211> 33

<212> ADN

45

<213> Homo sapiens

<400> 52

gttgacacca ccagaaaaaa tgttgactcc ctt
33

50

<210> 53

<211> 291

<212> ADN

ES 2 550 030 T3

<213> Homo sapiens

<400> 53

g ttgacacca ccagaaaaaa t gttgactcc cttggctacg ggcacactgt acgatcactg
60

a actgcacgc tcggctacgg cgttgacacc accagaaaaa atgttgactc ccttggctac
120

g gcctccacc tccagggaca ggatatggag caacaaggct acggccagta catcaaggct
180

a actccaagt tcatcgggat cactgagctg ggctacggca gcacctctca agcagaaaac
240

a tgcctcgtag gctacggcgt tgacaccacc agaaaaaatg ttgactcctt t
291

5

<210> 54

<211>9

<212> ADN

10 <213> Homo sapiens

<400> 54

g gctacggc
9

15

<210> 55

<211> 16

<212> PRT

20 <213> Homo sapiens

<400> 55

Ala Gln Tyr Ile Lys Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu
1 5 10 15

REIVINDICACIONES

1. Vacuna que contiene un compuesto inmunógeno que comprende un péptido que tiene un tamaño comprendido entre 10 y 30 aminoácidos, y que tiene más de 80% de identidad con una de las secuencias peptídicas de citoquinas siguientes:

- 5 39-VEIATMKKKGEKRCLNPESKA-60 (SEQ ID N° 18),
- 51-ADPSEEWVQKYVSDLELSA-69 (SEQ ID N° 27),
- 52-ADPSESWVQEYVYDLELN-69 (SEQ ID N° 28),
- 51-ANPEKKWVREYINSLEMS-68 (SEQ ID N° 34),
- 114-RAVQMSTKVLIQFLQKKAKNLDAITTPDPTTNASLL-149 (SEQ ID N° 26),
- 10 80-ISRIAVSYQTKVNLLS-95 (SEQ ID N° 6),
- 124-FQLEKGDRLSAEINR-138 (SEQ ID N° 7),
- 1-MQDPYVKEAENLKKYFNAGHSDVADNGTLFLGILKN-36 (SEQ ID N° 8),
- 118-MAELSPAAGTKRKRKRS-133 (SEQ ID N° 9),
- 20-PNMLRDLRDAFSRVKTFQMKDQLDNLKKE-50 (SEQ ID N° 10),
- 15 5-ITLQEIIKTLNSL-17 (SEQ ID N° 11),
- 135-KSSRGSSDPQG-145 (SEQ ID N° 14),
- 1-IPTSALVKETLALLSTHRTLLIANET-26 (SEQ ID N° 19),
- 57-CSAIEKTQRMLSGFCPHKVSAGQFSS-82 (SEQ ID N° 30),
- 115-LLPDSPVGQLHASLLGLSQ-133 (SEQ ID N° 32),
- 20 73-IMRIKPHQGHIGEMS-88 (SEQ ID N° 4),
- 87-TILYYIGKTPKIEQ-100 (SEQ ID N° 22),
- 123-STSAENMPV-132 (SEQ ID N° 3),

en la cual el péptido está en forma ciclizada,

25 en la cual dicho compuesto inmunógeno no comprende otros epítomos de dicha citoquina y en la cual dicho compuesto inmunógeno es capaz de generar en un sujeto anticuerpos que reconocen la citoquina natural.

2. Vacuna según la reivindicación 1, en la cual la citoquina es una quimioquina elegida entre IP10, MIP 1 alfa, MIP 1 beta y RANTES y la secuencia peptídica de citoquina se elige entre:

- 39-VEIATMKKKGEKRCLNPESKA-60 (SEQ ID N° 18),
- 51-ADPSEEWVQKYVSDLELSA-69 (SEQ ID N° 27),
- 30 52-ADPSESWVQEYVYDLELN-69 (SEQ ID N° 28),
- 51-ANPEKKWVREYINSLEMS-68 (SEQ ID N° 34).

3. Vacuna según la reivindicación 1, en la cual la citoquina es una citoquina proinflamatoria elegida entre IL-6, IL-1 beta y TNF alfa y la secuencia peptídica de citoquina se elige entre:

- 114-RAVQMSTKVLIQFLQKKAKNLDAITTPDPTTNASLL-149 (SEQ ID N° 26).
- 35 123-STSAENMPV-132 (SEQ ID N° 3),
- 80-ISRIAVSYQTKVNLLS-95 (SEQ ID N° 6),
- 124-FQLEKGDRLSAEINR-138 (SEQ ID N° 7).

4. Vacuna según la reivindicación 1, en la cual la citoquina es una citoquina elegida entre VEGF y TGF beta y la secuencia peptídica de citoquina se elige entre:

73-IMRIKPHQGQHIGEMS-88 (SEQ ID N° 4),

87-TILYYIGKTPKIEQ-100 (SEQ ID N° 22).

5. Vacuna según la reivindicación 1, en la cual la citoquina es una citoquina Th1/Th2 elegida entre IFN gamma, IL-10, IL-4, IL-12, IL-5, IL-13, IL-23, IL-6 e TNF alfa y la secuencia peptídica de citoquina se elige entre:

5 1-MQDPYVKEAENLKKYFNAGHSDVADNGTLFLGILKN-36 (SEQ ID N° 8),

118-MAELSPAAGTKRKRKRS-133 (SEQ ID N° 9),

20-PNMLRDLRDAFSRVKTFQMKDQLDNLKLLKE-50 (SEQ ID N° 10),

5-ITLQEIIKTLNSL-17 (SEQ ID N° 11),

135-KSSRGSSDPQG-145 (SEQ ID N° 14),

10 1-IPTSALVKETLALLSTHRTLLIANET-26 (SEQ ID N° 19),

57-CSAIEKTQRMLSGFCPHKVSAGQFSS-82 (SEQ ID N° 30),

115-LLPDSPVGQLHASLLGLSQ-133 (SEQ ID N° 32),

114-RAVQMSTKVLIQFLQKKAKNLDAITTPDPTTNASLL-149 (SEQ ID N° 26).

80-ISRIAVSYQTKVNLLS-95 (SEQ ID N° 6),

15 124-FQLEKGDRLSAEINR-138 (SEQ ID N° 7).

6. Vacuna según la reivindicación 1, para utilización en el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria.

7. Vacuna según la reivindicación 1, en la cual la citoquina es una citoquina elegida entre IFN gamma, IL-23 e IL-12 para utilización en el tratamiento de esclerosis en placas, diabetes autoinmunitaria o psoriasis.

20 8. Vacuna según la reivindicación 1, en la cual la citoquina es una citoquina elegida entre TNF alfa, IL-4, IL-5 e IL-13 para utilización en el tratamiento de alergia o asma.

9. Vacuna según la reivindicación 1, en la cual la citoquina es una citoquina elegida entre IL-10, TGF beta y VEGF para utilización en el tratamiento de cáncer.

10. Vacuna según la reivindicación 1, en la cual la citoquina es una citoquina elegida entre IL-12, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, IFN gamma y TNF alfa para utilización en el tratamiento de desajustes de Th1/Th2.

25 11. Vacuna según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la cual dicho péptido está acoplado a una proteína portadora.

12. Vacuna según la reivindicación 11, en la cual dicha proteína portadora se elige entre KLH, toxoide del tétanos, transferrina y ferritina.

30 13. Vacuna según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además un adjuvante de inmunidad mineral, oleoso o de síntesis.

14. Vacuna de ADN que codifica uno de los péptidos, tales como los definidos en la reivindicación 1.

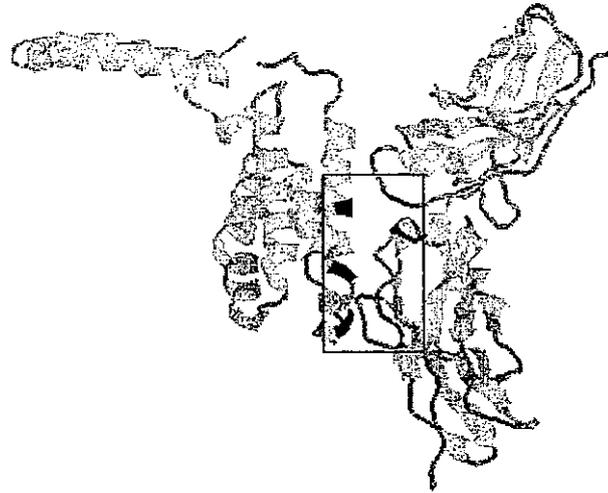


Figura 1

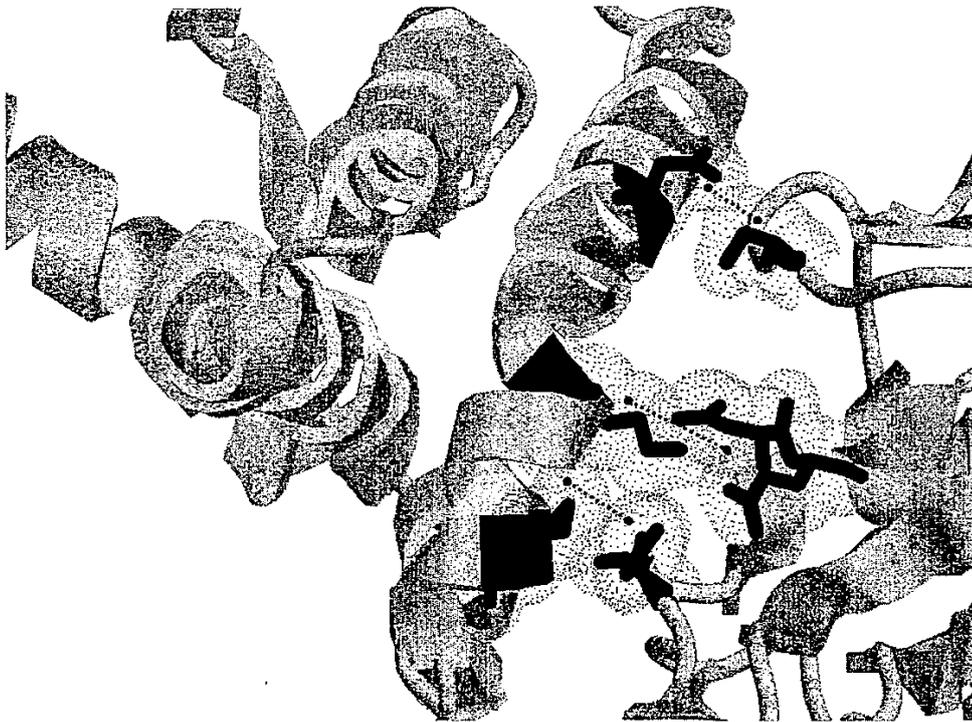


Figura 2