

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 680 222**

51 Int. Cl.:

**C07K 16/28** (2006.01)

**A61K 39/395** (2006.01)

**A61K 38/06** (2006.01)

**A61K 38/08** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.05.2009 E 14192407 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.05.2018 EP 2851084**

54 Título: **Modulación de los receptores con dominio Vps10p para el tratamiento de la enfermedad cardiovascular**

30 Prioridad:

**22.05.2008 DK 200800711**

**22.05.2008 US 55385 P**

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

**05.09.2018**

73 Titular/es:

**H. LUNDBECK A/S (100.0%)**

**Ottiliavej 9**

**2500 Valby, DK**

72 Inventor/es:

**NYKJÆR, ANDERS y**

**KJØLBY, MAD S FUGLSANG**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 680 222 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**

Modulación de los receptores con dominio Vps10p para el tratamiento de la enfermedad cardiovascular

**Campo de la invención**

- 5 La presente invención se refiere a la modulación de los receptores con dominio Vps10p para la modulación de concentraciones plasmáticas de lípidos anómalas para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares específicas. La descripción se refiere además a la identificación de ligandos capaces de actuar como antagonistas/inhibidores de los receptores con dominio Vps10p. La presente descripción se refiere también a la preparación y uso de dichos ligandos para el tratamiento de enfermedades o trastornos cardiovasculares.

**Antecedentes de la invención**

- 10 La concentración plasmática de lipoproteínas de baja densidad (LDL) que transportan el colesterol en la circulación humana, es uno de los factores de riesgo más importantes de la morbilidad y mortalidad cardiovascular (1). Las cantidades excesivas de colesterol en la circulación son depositadas en las paredes de los vasos coronarios produciendo el cierre del lumen del vaso y la obstrucción del flujo sanguíneo al corazón (y otros órganos.) Este proceso patológico se conoce como aterosclerosis. Como consecuencia de sucesos ateroscleróticos, se produce la
- 15 arteriopatía coronaria y el infarto de miocardio. Dada la importancia de la gestión de los niveles de LDL en pacientes, el colesterol LDL sigue siendo hoy el objetivo principal de la terapia cardiovascular (2, 3).

- El riesgo de desarrollar enfermedades y afecciones como la aterosclerosis, arteriopatía coronaria y cardiopatía coronaria se ha demostrado que está fuertemente correlacionado con los niveles altos de LDL-colesterol y triglicéridos. Los niveles elevados de lipoproteína de baja densidad-colesterol (LDL-colesterol) es un contribuyente
- 20 asociado a lípidos significativo, por ejemplo, para la cardiopatía coronaria.

- La aterosclerosis y la arteriopatía coronaria asociada es la causa principal de la mortalidad en el mundo industrializado. A pesar de los intentos de modificar los factores de riesgo secundarios (fumar, obesidad, falta de ejercicio) y el tratamiento de la dislipidemia con la modificación de la dieta y la terapia con fármacos, la cardiopatía coronaria sigue siendo la causa más común de muerte en EE.UU., donde la enfermedad cardiovascular da cuenta
- 25 de 44% de todas las muertes, con 53% de estas asociadas con cardiopatía coronaria aterosclerótica.

- Se conoce una serie de rutas bioquímicas que afectan a los niveles plasmáticos de colesterol y se han considerado objetivos en la intervención terapéutica. Estas etapas incluyen la velocidad con la que es producido el colesterol en el organismo y es introducido en lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), la extensión de la conversión de VLDL en LDL, así como la eficacia de la eliminación de las LDL en los tejidos hepáticos. Además, la conversión del
- 30 colesterol en ácidos biliares que son secretados en el intestino afecta a los niveles de lípidos en la circulación.

La familia de receptores con dominio Vps10p

Los autores de la presente invención han estudiado el efecto de la modulación de la actividad de los receptores con dominio Vps10p en los niveles plasmáticos de LDL-colesterol y triglicéridos. Los miembros de esta familia de receptores son Sortilina, SorLA, SorCS1, SorCS2 y SorCS3.

- 35 Sortilina

La sortilina, el miembro arquetípico de la familia de receptores con dominio Vps10p se denomina en ocasiones el receptor de neurotensina 3 (NTR3), Glicoproteína 95 (Gp95) o receptor NT 100 kDa. La sortilina humana tiene número de acceso en Swiss Prot ID No. Q99523.

- La sortilina, (SEQ ID NO. 1) es un receptor de membrana de tipo I expresado en una serie de tejidos, incluyendo el cerebro, médula espinal, testículos, hígado y músculo esquelético (6-7). La sortilina pertenece a una familia de receptores que comprende Sortilina, SorLA (8), SorCS1, SorCS2 y SorCS3.
- 40

- Todos los receptores de esta familia comparten la característica estructural de un dominio N-terminal de aproximadamente 600 aminoácido con un gran parecido con cada uno de los dos dominios que constituyen la parte luminal del receptor de clasificación de levaduras Vps10p (9). El dominio Vps10p (Vps10p-D) que entre otros
- 45 ligandos une factores neurotróficos y neuropéptidos (10-14), constituye la parte luminal entera de la sortilina (sSortilina) y es activado por la unión de ligando por escisión enzimática propeptídica (10, 11). La sortilina es un receptor multifuncional de tipo 1 capaz de endocitosis así como de clasificación intracelular (9-11), y como se ha mostrado recientemente, también está implicada en la señalización produciendo la inducción por proneurotrofina de la apoptosis neuronal mediada por p75<sup>NTR</sup> (12, 13, 18, 19). La sortilina es sintetizada como una proproteína, que se
- 50 convierte en la sortilina madura por escisión enzimática y eliminación de un propéptido N-terminal corto. Solo el receptor maduro se une a ligandos y lo que es interesante es que todos sus ligandos conocidos, por ejemplo, neurotensina (NT), lipoproteína lipasa, las proformas del factor de crecimiento nervioso  $\beta$  (proNGF) y factor neurotrófico derivado del cerebro (proBDNF), proteína asociada al receptor (RAP), y su propio péptido, compiten por la unión (11-13, 16) indicando que los diversos ligandos se dirigen a un sitio de unión compartido o parcialmente

compartido. El NT es un tridecapéptido, que se une a sortilina, SortLA y los dos receptores acoplados a proteína G NTR1 y NTR2 (10, 20-22). La función fisiológica de la NT en relación con la sortilina no se ha elucidado completamente (23), aunque la NT es una herramienta importante, puesto que inhibe la unión de todos los demás ligandos al Vps10p-D de la sortilina.

## 5 SorLA

El receptor relacionado con la proteína de clasificación, abreviada SorLA (nº de ID en Swiss Prot Q92673), también conocida como LR11, es una proteína de membrana de tipo 1, de 250 kDa y el segundo miembro identificado en la familia de receptores con dominio Vps10p de SorLa, como la sortilina, cuyo dominio luminal consiste en un dominio Vps10p solo, se sintetiza como un pro-receptor que es escindido por furina en los compartimentos tardíos de Golgi. Se ha demostrado que el truncado acondiciona el dominio Vps10p para la unión inhibitoria al propéptido de neuropéptidos y la proteína asociada al receptor. Se ha demostrado (21) que se produce la unión ávida de la proteína asociada al receptor, apolipoproteína E, y la lipoproteína lipasa no inhibida por propéptido en sitios localizados en otros dominios lumenales. En células transfectadas, aproximadamente 10% de SorLa de longitud completa es expresada en la superficie celular capaz de mediar la endocitosis. El principal grupo de receptores se encuentra en los compartimentos tardíos de Golgi, y se ha sugerido la interacción con ligandos recién sintetizados.

## 15 SorCS1-3

SorCS1 (nº de ID en Swiss Prot Q8WY21), SorCS2 (nº de ID en Swiss Prot Q96PQ0) y SorCS3 (nº de ID en Swiss Prot Q9UPU3) constituyen un subgrupo de proteínas muy similares mutuamente que contienen tanto un Vps10p-D como un dominio rico en leucina limitando el dominio transmembrana (14, 26). SorCS1 puede tener una función importante fuera del sistema nervioso, ya que su región en el gen se ha identificado como un locus de característica cuantitativa de la diabetes de tipo 2 en ratones (27), y las variaciones en el gen de SorCS1 humano se asocian con características relacionadas con la diabetes (28). Se presentan indicaciones adicionales en esta dirección en otro estudio (29) en donde la SorCS1 se asocia con la región Niddm1i 16-Mb controladora de glucosa principal, en la rata GK diabética, una región que produce secreción defectuosa de insulina y que también corresponde a los locus en seres humanos y ratones asociados con la diabetes de tipo 2.

## Estado de la técnica

El estado actual de la técnica para la terapia de LDL plasmático alto es la aplicación de estatinas, inhibidores que interfieren con la producción de colesterol endógeno y por lo tanto, reducen la producción de partículas LDL ricas en colesterol. Sin embargo, el uso de estatinas está asociado con un riesgo sustancial de efectos secundarios tales como efectos adversos en las funciones muscular y hepática, así como en las capacidades cognitivas (4,5). Por lo tanto, los amplios esfuerzos de investigación se dirigen a la identificación de nuevos factores que contribuyen a la regulación del metabolismo del colesterol plasmático. Estos factores pueden representar alternativas más seguras a la intervención terapéutica con altos niveles de LDL plasmático.

Recientemente, una serie de grupos ha usado estudios de asociación del genoma completo para identificar regiones cromosómicas en el genoma humano que se puedan asociar con el control de los valores de lípidos plasmáticos. En particular, estos estudios sugieren simplemente determinadas regiones en cromosomas particulares que pueden tener algún valor predictivo de las concentraciones de lípidos y riesgo cardiovascular. Ninguno de estos estudios proporciona pruebas experimentales que confirmen una función causal de los genes candidatos en dicha región cromosómica en el control de la homeostasia de lípidos.

Por ejemplo, Willer et al. (24) así como Kathiresan et al. (25) han cartografiado ambos un locus cromosómico asociado con el LDL-colesterol en 1p13. Este locus contiene varios genes candidatos entre los cuales están CELSR2, PSRC1 y SORT1. No está claro si cualquiera de los tres genes u otros en esta región pueden ser relevantes para la determinación del LDL-colesterol, como establecen Kathiresan et al. en la página 191: "No está claro todavía qué variantes causales o incluso los genes causales en el nuevo locus"

Incluso es más confuso el que Kathiresan et al. identificaran un aumento de los niveles de ARNm para SORT1 con el alelo C que predispone a su portador a LDL plasmático bajo. Los autores concluyen, "... estas observaciones sugieren un mecanismo por el cual la expresión de la sortilina aumentada vista con el alelo C (en SNP rs646776) podría llevar a menores concentraciones de LDL-colesterol en la circulación". En la argumentación de los autores, la sortilina actúa como un factor protector reductor de los niveles de LDL en la circulación. Cuanto mayores son los niveles de ARNm para la sortilina (SORT1), menor es la concentración plasmática de LDL.

Sin embargo, esta suposición es incorrecta como demuestran los autores de la presente invención mediante estudios funcionales usando modelos de ratón deficientes en sortilina en donde, de hecho, la pérdida de expresión de la sortilina está asociada con el LDL plasmático bajo. Por lo tanto, la actividad normal de la sortilina aumenta en lugar de disminuir las concentraciones de LDL. El aumento visto en el alelo C en el estudio de Kathiresan et al., es probable que refleje una regulación por aumento compensatoria de un alelo de sortilina disfuncional.

La solicitud de patente WO 2004/056385 describe un método de tratamiento de una enfermedad o trastorno seleccionado de dolor inflamatorio, enfermedades o trastornos del páncreas, trastornos renales, trastornos

pulmonares, trastornos cardiovasculares, diferentes tipos de tumores, trastornos psiquiátricos o trastornos neuronales, mediante el uso de agentes capaces de inhibir receptores con dominio Vps10p, en particular la sortilina. Sin embargo, el documento WO 2004/056385 no describe que la sortilina esté implicada en la regulación de los niveles plasmáticos de lípidos.

- 5 Otras solicitudes de patente tales como WO 2006/138343 y WO 2007/035716 describen composiciones que comprenden proteínas/receptores que contienen CR que se unen a la proteína asociada al receptor (RAP) para tratar un gran número de enfermedades incluyendo enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, la cita en este documento de la sortilina como una proteína que comprende repeticiones CR es incorrecta como lo es la referencia al número de acceso en SwissProt Q92673 junto con la sortilina. Q92673 es el número de acceso en SwissProt para el receptor con dominio Vps10p SorLa que comprende realmente repeticiones CR a las que se puede unir la RAP.

Una solicitud de patente adicional WO 2007/141346 describe genes que regulan el tráfico de colesterol intracelular como dianas para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el colesterol.

Se describe el miembro de receptores con dominio Vps10p SorCS1 como uno de varios objetivos potenciales sin más descripción de un mecanismo o asociación a otros receptores con dominio Vps10p.

## 15 Resumen de la invención

En un aspecto principal la presente invención se refiere a un anticuerpo para usar en un método de tratamiento y/o prevención de concentraciones plasmáticas de lípidos anómalas, en donde dicho anticuerpo es un antagonista y es capaz de unirse a un receptor de sortilina inhibiendo así la actividad de dicho receptor de sortilina.

- 20 Se describe además el uso de al menos un antagonista capaz de unirse a al menos un resto de aminoácido de un agonista del receptor con dominio Vps10p seleccionado del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 6, 7, 8, 9, 10, 14 o 15 o uno de sus fragmentos o variantes, en la fabricación de un medicamento, para el tratamiento y/o prevención de concentraciones plasmáticas de lípidos anómalas en un animal.

Se describe además un método in vitro para el cribado de un antagonista capaz de unirse a un receptor con dominio Vps10p, que comprende las etapas de:

- 25 a) proporcionar un receptor con dominio Vps10p, y  
b) proporcionar un agonista,  
c) proporcionar una biblioteca de potenciales antagonistas, y  
d) proporcionar un ensayo para medir la unión de un agonista a un receptor con dominio Vps10p, y  
e) añadir la biblioteca de potenciales antagonistas que se van a ensayar al ensayo, y  
30 f) determinar la cantidad de agonista al receptor con dominio Vps10p, y  
g) comparar la cantidad determinada en la etapa f) con una cantidad medida en ausencia del antagonista que se va a ensayar,  
h) en donde la diferencia en las dos cantidades identifica un antagonista que altera la unión del agonista al receptor con dominio Vps10p.
- 35 Se describe además un método para determinar el grado de inhibición de un antagonista en la actividad de un receptor con dominio Vps10p en un cultivo celular que expresa dicho receptor, en donde dicho receptor con dominio Vps10p comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 60% con la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5, comprendiendo dicho método las etapas de:
- 40 a) proporcionar un cultivo celular que expresa un receptor con dominio Vps10p, y  
b) proporcionar un agonista del receptor con dominio Vps10p, y  
c) proporcionar una biblioteca de potenciales antagonistas, y  
d) proporcionar un ensayo para determinar la unión a, internalización de y señalización a través de, un receptor con dominio Vps10p, comprendiendo dicho ensayo,  
45 e) añadir la biblioteca de potenciales antagonistas que se van a ensayar c) al cultivo celular a), en presencia del agonista b), y  
f) determinar

- i) la cantidad de antagonista unido al receptor con dominio Vps10p, y/o
  - ii) la cantidad de antagonista internalizado por el receptor con dominio Vps10p, y/o
  - iii) el grado de señalización a través del receptor con dominio Vps10p, y
- 5 g) comparar la cantidad determinada en la etapa f) con una cantidad medida en ausencia del antagonista que se va a ensayar,
- h) en donde la diferencia en las dos cantidades identifica un antagonista
  - i) capaz de unirse a un receptor con dominio Vps10p, y/o
  - ii) capaz de inhibir la señalización a través de un receptor con dominio Vps10p, y/o
  - iii) capaz de inhibir la internalización de un agonista de dicho receptor con dominio Vps10p.
- 10 Se describe además un método para determinar el grado de inhibición de un antagonista en la actividad de un receptor con dominio Vps10p en un cultivo celular que expresa dicho receptor y con un cultivo celular que carece de expresión de dicho receptor, comprendiendo dicho método las etapas de:
  - a) proporcionar un cultivo celular que expresa un receptor con dominio Vps10p, y
  - b) proporcionar un cultivo celular que no expresa un receptor con dominio Vps10p, y
- 15 c) opcionalmente proporcionar un cultivo celular que expresa en exceso un receptor con dominio Vps10p
- d) proporcionar un agonista del receptor con dominio Vps10p, y
- e) proporcionar una biblioteca de potenciales antagonistas, y
- f) proporcionar un primer ensayo que comprende a) y un segundo ensayo que comprende b) y opcionalmente un tercer ensayo que comprende c), y
- 20 g) añadir la biblioteca de potenciales antagonistas que se van a ensayar a los tres ensayos, y
- h) determinar
  - i) la cantidad de antagonista unido al receptor con dominio Vps10p, y/o
  - ii) la cantidad de antagonista internalizado por el receptor con dominio Vps10p, y/o
  - iii) el grado de señalización a través del receptor con dominio Vps10p, y
- 25 i) comparar la cantidad de antagonista determinada en la etapa g) usando a) con la cantidad determinada en g) usando b) y la cantidad determinada en g) usando c),
- j) en donde la diferencia en las dos cantidades identifica un antagonista
  - i) capaz de unirse a un receptor con dominio Vps10p, y/o
  - ii) capaz de inhibir la señalización a través de un receptor con dominio Vps10p, y/o
- 30 iii) capaz de inhibir la internalización de un agonista de dicho receptor con dominio Vps10p.
- Se describe además un método para determinar el grado de inhibición de un antagonista en la actividad de un receptor con dominio Vps10p en un mamífero que expresa dicho receptor, comprendiendo dicho método las etapas de:
  - a) administrar dicho antagonista a un mamífero no humano que expresa el receptor de forma natural,
- 35 b) determinar
  - i) la cantidad de antagonista unido al receptor con dominio Vps10p, y/o
  - ii) la cantidad de antagonista internalizado por el receptor con dominio Vps10p, y/o
  - iii) el grado de señalización a través del receptor con dominio Vps10p, y
- c) comparar la medición de la etapa b) con una medición obtenida en ausencia del compuesto que se va a ensayar,
- 40 d) en donde la diferencia en las dos cantidades identifica el efecto de dicho antagonista en dicho mamífero que

expresa el receptor de forma natural.

También se describe un método para determinar el grado de inhibición de un antagonista en la actividad de un receptor con dominio Vps10p en un mamífero que expresa dicho receptor con un segundo mamífero que carece de expresión de dicho receptor y un tercer mamífero que expresa en exceso dicho receptor, comprendiendo dicho método las etapas de:

- 5 a) proporcionar un mamífero que expresa un receptor con dominio Vps10p, y
- b) proporcionar un mamífero que no expresa un receptor con dominio Vps10p, y
- c) proporcionar un mamífero que expresa en exceso un receptor con dominio Vps10p, y
- d) proporcionar un agonista del receptor con dominio Vps10p, y
- 10 e) proporcionar una biblioteca de potenciales antagonistas, y
- f) administrar dicha biblioteca de antagonistas a dicho mamífero de a), b) y c) respectivamente, y
- g) determinar
  - i) la cantidad de antagonista unido al receptor con dominio Vps10p, y/o
  - ii) la cantidad de antagonista internalizado por el receptor con dominio Vps10p, y/o
  - 15 iii) el grado de señalización a través del receptor con dominio Vps10p, en cada uno de los mamíferos definidos en a), b) y c), y
  - h) comparar la cantidad de antagonista determinada en la etapa g) usando a) con la cantidad determinada en g) usando b) y la cantidad determinada en g) usando c),
  - i) en donde la diferencia en las cantidades identifica un antagonista
  - 20 i) capaz de unirse a un receptor con dominio Vps10p, y/o
  - ii) capaz de inhibir la señalización a través de un receptor con dominio Vps10p, y/o
  - iii) capaz de inhibir la internalización de un agonista de dicho receptor con dominio Vps10p.

Se describe además una composición farmacéutica que comprende el antagonista de la reivindicación 1, seleccionado dicho antagonista del grupo que consiste en compuestos orgánicos pequeños, oligopéptidos, proteínas y anticuerpos monoclonales o policlonales.

En un aspecto importante, la presente invención se refiere al uso de la composición farmacéutica descrita por las reivindicaciones para preparar un medicamento para el tratamiento o prevención de una enfermedad o trastorno asociado con concentraciones plasmáticas de lípidos anómalas.

En un aspecto adicional, la presente descripción se refiere a un método de tratamiento de una afección patológica del sistema cardiovascular asociada con concentraciones plasmáticas de lípidos anómalas en un sujeto, que comprende administrar a un individuo que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica definida antes en la presente memoria.

En un aspecto adicional, la presente descripción se refiere a un kit en partes que comprende:

- una composición farmacéutica como se ha definido antes en la presente memoria,
- 35 - un instrumento médico u otros medios para administrar el medicamento,
- instrucciones de cómo usar el kit en partes.

En un aspecto adicional, la presente descripción se refiere al uso de al menos un antagonista, en donde dicho antagonista es capaz de inhibir la expresión de un receptor con dominio Vps10p en un animal.

#### Descripción detallada de la invención

##### Definiciones

Concentraciones plasmáticas de lípidos anómalas: La expresión concentraciones plasmáticas de lípidos anómalas como se usa en la presente memoria, se refiere al nivel de uno o más de los siguientes niveles plasmáticos de lípidos: colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol y triglicéridos.

Dichos niveles anómalos son niveles (es decir, concentraciones) que están fuera de uno o más de los siguientes intervalos de la tabla 1:

Tabla 1: Niveles plasmáticos normales de lípidos

| A: Colesterol total                                                                                                                   |               |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Grupo de pacientes                                                                                                                    | Concentración |
| Hombres y mujeres de 19-29 años de edad                                                                                               | 3,5 -6,2 mM   |
| Hombres y mujeres de 30-59 años de edad                                                                                               | 4,4-7,8 mM    |
| Mujeres de más de 59 años de edad                                                                                                     | 4,8-8,0 mM    |
| Hombres de más de 59 años de edad                                                                                                     | 4,3 -7,3 mM   |
| Niños menores de 1 año de edad                                                                                                        | 1,5-4,5 mM    |
| Niños de 1-18 años de edad                                                                                                            | 2,7-6,0 mM    |
| Límite recomendado para el tratamiento en pacientes que padecen trastornos cardiovasculares, cuando el colesterol total es mayor que: | 5 mM          |
| Límite recomendado para el tratamiento en pacientes que padecen diabetes, cuando el colesterol total es mayor que:                    | 4,5 mM        |
| B: LDL-colesterol                                                                                                                     |               |
| Mujeres de 20-29 años de edad                                                                                                         | 1,5-4,3 mM    |
| Mujeres de 30-45 años de edad                                                                                                         | 1,9-4,5 mM    |
| Mujeres de más de 45 años de edad                                                                                                     | 2,4-5,5 mM    |
| Hombres de 20-29 años de edad                                                                                                         | 1,7-4,3 mM    |
| Hombres de 30-45 años de edad                                                                                                         | 2,1-5,0 mM    |
| Hombres de 46-69 años de edad                                                                                                         | 2,3-5,3 mM    |
| Hombres de más de 69 años de edad                                                                                                     | 2,3-4,8 mM    |
| Niños de 10-19 años de edad                                                                                                           | 1,8-3,5 mM    |
| Adultos con mayor riesgo de trastorno cardiovascular cuando el LDL-colesterol es mayor que:                                           | 3 mM          |
| C: HDL-colesterol                                                                                                                     |               |
| Mujeres 20-40 años de edad                                                                                                            | 1,0-2,0 mM    |
| Mujeres de más de 40 años de edad                                                                                                     | 1,0-2,3       |
| Hombres de 20-60 años de edad                                                                                                         | 0,7-1,7 mM    |
| Hombres de más de 60 años de edad                                                                                                     | 0,8-1,9 mM    |
| Adultos con mayor riesgo de trastorno cardiovascular cuando el HDL-colesterol es mayor que:                                           | 1 mM          |
| D: Triglicéridos                                                                                                                      |               |
| Hombres y mujeres de 20-40 años de edad                                                                                               | 0,4-1,6 mM    |
| Hombres y mujeres de más de 40 años de edad                                                                                           | 0,5-2,5 mM    |
| Niños de 0-9 años                                                                                                                     | 0,3-1,2 mM    |
| Adultos con mayor riesgo de trastorno cardiovascular cuando el nivel de triglicéridos es mayor que:                                   | 2 mM          |

Fuentes de la tabla 1:

"Dansk Laboratorie medicin, En Håndbog" Jørgen Lyngbye, 2001

Konsensus, www.cardio.dk el 18 de mayo de 2009 (Dansk Kardiologisk Selskab).

5 Adyuvante: Cualquier sustancia cuya mezcla con un determinante inmunógeno/antígeno administrado aumenta o modifica de otra forma la respuesta inmunitaria a dicho determinante.

10 Afinidad: La interacción de la mayoría de los ligandos con sus sitios de unión se puede caracterizar en términos de afinidad de unión. En general, la unión del ligando de alta afinidad resulta de la mayor fuerza intermolecular entre el ligando y su receptor, mientras que la unión del ligando de baja afinidad implica menos fuerza intermolecular entre el ligando y su receptor. En general, la unión de alta afinidad implica un tiempo de permanencia más largo para el ligando en su sitio de unión al receptor que en el caso de la unión de baja afinidad. La unión de alta afinidad de ligandos a receptores a menudo es fisiológicamente importante cuando parte de la energía de la unión se puede usar para producir un cambio conformacional en el receptor, produciendo el comportamiento alterado de un canal de iones asociado o enzima.

15 Un ligando que se une a un receptor, altera la función del receptor y produce una respuesta fisiológica, se llama un agonista para ese receptor. La unión del agonista a un receptor se puede caracterizar tanto en términos de cuánto se puede producir la respuesta fisiológica y la concentración del agonista que se necesita para producir la respuesta fisiológica. La unión del ligando de alta afinidad implica que una concentración relativamente baja de un ligando es adecuada para ocupar de forma máxima un sitio de unión del ligando y producir una respuesta fisiológica. La unión del ligando se caracteriza a menudo en términos de la concentración de ligando a la que la mitad de los sitios de 20 unión al receptor están ocupados, conocido como la constante de disociación ( $K_d$ ). Por consiguiente, un antagonista que es capaz de unirse a un receptor de la familia con dominio Vps10p, inhibiendo de esta forma la actividad de dicho receptor con dominio Vps10p puede ser un antagonista que tiene mayor afinidad por el sitio de unión de un agonista del dominio Vps10p que el propio agonista.

25 Alcohol: Una clase de compuestos orgánicos que contienen un o más grupos hidroxilo (OH). En este contexto un grupo hidrocarbonado saturado o insaturado, ramificado o no ramificado, colocado como sustituyente en una molécula mayor.

Grupo alicíclico: la expresión "grupo alicíclico" significa un grupo hidrocarbonado cíclico que tiene propiedades parecidas a las de los grupos alifáticos.

30 Grupo alifático: en el contexto de la presente invención, la expresión "grupo alifático" significa un grupo hidrocarbonado saturado o insaturado, lineal o ramificado. Esta expresión se usa para abarcar grupos alquilo, alquenilo y alquinilo, por ejemplo.

Grupo alquilo: la expresión "grupo alquilo" significa un grupo hidrocarbonado saturado, lineal o ramificado, por ejemplo, metilo, etilo, isopropilo, t-butilo, heptilo, dodecilo, octadecilo, amilo, 2-etilhexilo y similares.

35 Grupo alquenilo: la expresión "grupo alquenilo" significa un grupo hidrocarbonado insaturado, lineal o ramificado con uno o más dobles enlaces carbono-carbono, tal como un grupo vinilo.

Grupo alquinilo: la expresión "grupo alquinilo" significa un grupo hidrocarbonado insaturado, lineal o ramificado con uno o más triples enlaces carbono-carbono.

Anfifílico: sustancia que contiene grupos tanto polares, solubles en agua, como no polares insolubles en agua.

40 Agonista: Un agonista es un compuesto capaz de aumentar o afectar a la actividad de un receptor. Específicamente, un agonista del receptor con dominio Vps10p es un compuesto capaz de unirse a uno o más sitios de unión de un receptor con dominio Vps10p, induciendo de esta forma la misma respuesta fisiológica que un compuesto ligando agonista endógeno dado.

45 Antagonista: Un antagonista en este caso es sinónimo de un inhibidor. Un antagonista es un compuesto capaz de disminuir la actividad de un efector tal como un receptor. Específicamente, un antagonista de receptor con dominio Vps10p es un compuesto capaz de unirse a uno o más sitios de unión del receptor con dominio Vps10p, inhibiendo de esta forma la unión de otro ligando, inhibiendo así una respuesta fisiológica.

ARN de sentido contrario: una molécula de ARN capaz de producir el silenciamiento de un gen mediante la unión específica a una molécula de ARNm de interés.

50 ADN de sentido contrario: una molécula de ADN capaz de producir el silenciamiento de un gen mediante la unión específica a una molécula de ARNm de interés.

Apoptosis: La apoptosis es un proceso de suicidio por una célula en un organismo multicelular. Es una de los tipos principales de muerte celular programada (PCD), e implica una serie orquestada de sucesos bioquímicos que

conducen a una morfología celular característica y muerte.

Inhibidor de apoptosis: Cualquier compuesto capaz de disminuir el proceso de apoptosis.

Grupo aromático: la expresión "grupo aromático" o "grupo arilo" significa un grupo hidrocarbonado aromático mono o policíclico.

5 Unión: El término "unión" o "asociado con" se refiere a un estado de proximidad entre entidades químicas o compuestos, o partes de los mismos. La asociación puede ser no covalente, en donde la yuxtaposición es favorecida energéticamente por enlaces de hidrógeno o interacciones de van der Waals o electrostáticas, o puede ser covalente.

10 Sitio de unión: La expresión "sitio de unión" o "bolsillo de unión", como se usa en la presente memoria, se refiere a una región de una molécula o complejo molecular que, como resultado de su forma, se asocia favorablemente con otra molécula, complejo molecular, entidad química o compuesto. Como se usa en la presente memoria, el bolsillo comprende al menos una cavidad profunda y opcionalmente una cavidad poco profunda.

15 Sitio de unión 1 de la sortilina: Un sitio de unión de alta afinidad de la neurotensina o, de forma sinónima, el sitio de unión 1 es un sitio de unión de la sortilina (SEQ ID NO: 1) que tiene alta afinidad por la neurotensina o un fragmento o variante de neurotensina, y que tiene afinidad por el propéptido de sortilina o un fragmento del mismo (restos de aminoácidos 34-77 de la SEQ ID NO. 1) dicho sitio de unión comprende los restos de aminoácidos R325, S316, Y351, I353, K260, I327, F314, F350 a M363, S305, F306, T398 a G400, I303-G309, Q349-A356, Y395 y T402 de la SEQ ID NO. 1. Más preferiblemente, el sitio de unión 1 comprende los aminoácidos R325, S316, Y351, I353, K260, I327, F314, F350 a M363, S305, F306 y T398 a G400 de la SEQ ID NO. 1. Lo más preferiblemente, el sitio de unión  
20 1 de la sortilina comprende los aminoácidos R325, S316, Y351, I353, K260, I327, F314 y F350 a M363 de la SEQ ID NO. 1.

El sitio de unión 1 es un sitio de unión promiscuo.

25 Sitio de unión 2 de la sortilina: Un sitio de unión de la sortilina que tiene baja afinidad por la neurotensina o un fragmento o variante de neurotensina, comprendiendo dicho sitio de unión los restos de aminoácidos L572, L114, V112, R109 a S111, S115 a G118, T570, G571, W586, W597, T168-I174, L572, A573 y S584 a F588 de la SEQ ID NO. 1. Más preferiblemente, el sitio de unión de la sortilina de baja afinidad de la neurotensina comprende los aminoácidos L572, L114, V112, R109 a S111, S115 a G118, T570, G571, W586 y W597 de la SEQ ID NO. 1. Lo más preferiblemente, el sitio de unión de la sortilina de baja afinidad de la neurotensina comprende los aminoácidos L572, L114 y V112. El sitio de unión 2 es promiscuo y se puede unir al propéptido de sortilina (restos de  
30 aminoácidos 34-77 de la SEQ ID NO. 1).

35 Sitio de unión 3 de la sortilina: Un sitio de unión promiscuo de la sortilina que comprende los restos de aminoácidos D403, S420, D422, N423, S424, I425, Q426, E444, T451, Y466, E470, I498, S499 y V500 de la SEQ ID NO. 1, más preferiblemente que comprende los restos de aminoácidos D403, N423, S424, I425, T451, Y466, I498 y V500 de la SEQ ID NO. 1, lo más preferiblemente que comprende los restos de aminoácidos T451, Y466, I498 y V500 de la SEQ ID NO. 1.

40 Agente biorreactivo: La expresión "agente biorreactivo" como se usa en la presente memoria se refiere a cualquier sustancia que se puede usar en relación con una aplicación que es terapéutica o de diagnóstico, tal como, por ejemplo, en métodos para el diagnóstico de la presencia o ausencia de una enfermedad en un paciente, y/o métodos para el tratamiento de una enfermedad en un paciente. El "agente biorreactivo" se refiere a sustancias que son capaces de ejercer un efecto biológico in vitro y/o in vivo. Los agentes bioactivos pueden ser neutros, con carga positiva o negativa. Los agentes bioactivos adecuados incluyen, por ejemplo, profármacos, agentes de diagnóstico, agentes terapéuticos, agentes farmacéuticos, fármacos, agentes de suministro de oxígeno, sustitutos de sangre, moléculas orgánicas sintéticas, polipéptidos, péptidos, vitaminas, esteroides, análogos de esteroides y determinantes genéticos, incluyendo nucleósidos, nucleótidos y polinucleótidos.

45 Isquemia cerebral: La isquemia cerebral global es una afección isquémica donde el cerebro no recibe suficiente flujo sanguíneo para mantener la función neurológica normal.

Coma: Un periodo prolongado de inconciencia después de lesión cerebral o trastornos metabólicos. La persona en coma puede tener un reflejo simple en respuesta al tacto o dolor, pero esencialmente no hay respuesta significativa a estímulos externos.

50 Grupo catiónico: Un grupo químico capaz de funcionar como un donador de protones cuando un compuesto que comprende el grupo químico se disuelve en un disolvente, preferiblemente cuando se disuelve en agua.

Complejo: Como se usa en la presente memoria, el término "complejo" se refiere a la combinación de una molécula o una proteína, análogos conservativos o truncados de la misma, asociada con una entidad química.

Coordenadas: El término “coordenadas” como se usa en la presente memoria, se refiere a la información de la organización tridimensional de los átomos que contribuyen a una estructura de proteína. El mapa final que contiene las coordenadas atómicas de los constituyentes del cristal se puede almacenar en un soporte informático; típicamente, los datos se almacenan en un formato de PDB o en un formato de mmCIF, los cuales son ambos conocidos para el experto en la técnica. Sin embargo, las coordenadas cristalinas también se pueden almacenar en tablas simples o formato de texto. El formato de PDB se organiza de acuerdo con las instrucciones y directrices dadas por el Research Collaboratory for Structural Biology.

Grupo cíclico: la expresión “grupo cíclico” significa un grupo hidrocarbonado de anillo cerrado que se clasifica como un grupo alicíclico, grupo aromático o grupo heterocíclico.

Cicloalqueno: significa un radical carbocíclico insaturado que consiste en 1, 2 o 3 anillos de 3 a 8 carbonos por anillo, que puede estar opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en hidroxilo, ciano, alqueno inferior, alcoxi inferior, halogenoalcoxi inferior, alquenoilitio, halógeno, halogenoalqueno, hidroxialqueno, nitro, alcoxycarbonilo, amino, alquenoilamino, alquenoilsulfonilo, arilsulfonilo, alquenoilaminosulfonilo, arilaminosulfonilo, alquilsulfonilamino, arilsulfonilamino, alquenoilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo, alquenoilcarbonilamino y arilcarbonilamino.

Cicloalquilo: significa un radical carbocíclico saturado monovalente que consiste en 1, 2 o 3 anillos, de 3 a 8 carbonos por anillo, que puede estar opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en hidroxilo, ciano, alquilo inferior, alcoxi inferior, halogenoalcoxi inferior, alquilitio, halógeno, halogenoalquilo, hidroxialquilo, nitro, alcoxycarbonilo, amino, alquilamino, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, alquilaminosulfonilo, arilaminosulfonilo, alquilsulfonilamino, arilsulfonilamino, alquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo, alquilcarbonilamino y arilcarbonilamino.

Interacción dipolo-dipolo: La expresión “interacción dipolo-dipolo” como se usa en la presente memoria se refiere a la atracción que puede ocurrir entre dos o más moléculas polares. Por lo tanto, la “interacción dipolo-dipolo” se refiere a la atracción de un extremo positivo parcial, no cargado, de una primera molécula polar, con el extremo negativo parcial, no cargado, de una segunda molécula polar. La “interacción dipolo-dipolo” también se refiere al enlace de hidrógeno intermolecular.

Interacción electrostática: La expresión “interacción electrostática” como se usa en la presente memoria, se refiere a cualquier interacción que se produce entre componentes cargados, moléculas o iones, debido a fuerzas de atracción cuando componentes de carga eléctrica opuesta son atraídos entre sí. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a: interacciones iónicas, interacciones covalentes, interacciones entre un ion y un dipolo (ion y molécula polar), interacciones entre dos dipolos (cargas parciales de moléculas polares), enlaces de hidrógeno y enlaces de dispersión de London (dipolos inducidos de moléculas polarizables). Así, por ejemplo, la “interacción iónica” o “interacción electrostática” se refiere a la atracción entre una primera molécula positivamente cargada y una segunda molécula negativamente cargada. Las interacciones iónicas o electrostáticas incluyen, por ejemplo, la atracción entre un agente bioactivo negativamente cargado.

Hipercolesterolemia familiar: La hipercolesterolemia familiar (abreviada HF) es un trastorno genético caracterizado por niveles altos de colesterol, específicamente niveles muy altos de lipoproteína de baja densidad (LDL, “colesterol malo”), en la sangre y enfermedades cardiovasculares tempranas. Muchos pacientes tienen mutaciones en el gen de LDLR que codifica la proteína receptora de LDL (véase la figura 3) que elimina el LDL de la circulación, o apolipoproteína B (ApoB), que es parte del LDL que se une al receptor de LDL. Las mutaciones en otros genes son raras. Los pacientes que tienen una copia anómala (son heterocigotos) del gen de LDLR pueden tener enfermedad cardiovascular prematura a la edad de 30 a 40 años. Tener dos copias anómalas (ser homocigoto) puede producir enfermedad cardiovascular grave en la infancia. La HF heterocigota es un trastorno genético común, que aparece en 1:500 personas en la mayoría de los países; la HF homocigota es mucho más rara, apareciendo en 1 en un millón de nacimientos. El tratamiento de la HF heterocigota normalmente es con estatinas, secuestradores de ácidos biliares u otros fármacos que disminuyen los niveles de colesterol (agentes hipolipidémicos). A los nuevos casos se les ofrece normalmente asesoramiento genético. La HF homocigota a menudo no responde a la terapia médica y puede requerir otros tratamientos, incluyendo la aféresis de LDL (eliminación del LDL en un método similar a la diálisis) y ocasionalmente el trasplante de hígado. La presente invención proporciona nuevos medios para preparar un medicamento para el tratamiento de la HF y proporciona un método de tratamiento de la HF. La invención hace esto proporcionando antagonistas que se unen específicamente a sitios de unión de la sortilina.

Forman un anillo: significa que los átomos mencionados se conectan mediante un enlace cuando se forma la estructura de anillo.

Fragmentos: Los fragmentos de polipéptidos según la presente descripción, incluyendo cualesquiera equivalentes funcionales de los mismos, en una realización pueden comprender menos de 500 restos de aminoácidos, tal como menos de 450 restos de aminoácidos, por ejemplo menos de 400 restos de aminoácidos, tal como menos de 350 restos de aminoácidos, por ejemplo menos de 300 restos de aminoácidos, por ejemplo menos de 250 restos de aminoácidos, tal como menos de 240 restos de aminoácidos, por ejemplo menos de 225 restos de aminoácidos, tal como menos de 200 restos de aminoácidos, por ejemplo menos de 180 restos de aminoácidos, tal como menos de

160 restos de aminoácidos, por ejemplo menos de 150 restos de aminoácidos, tal como menos de 140 restos de aminoácidos, por ejemplo menos de 130 restos de aminoácidos, tal como menos de 120 restos de aminoácidos, por ejemplo menos de 110 restos de aminoácidos, tal como menos de 100 restos de aminoácidos, por ejemplo menos de 90 restos de aminoácidos, tal como menos de 85 restos de aminoácidos, por ejemplo menos de 80 restos de aminoácidos, tal como menos de 75 restos de aminoácidos, por ejemplo menos de 70 restos de aminoácidos, tal como menos de 65 restos de aminoácidos, por ejemplo menos de 60 restos de aminoácidos, tal como menos de 55 restos de aminoácidos, por ejemplo menos de 50 restos de aminoácidos. Los fragmentos de neurotensina incluyen, pero no se limitan a los aminoácidos C-terminales de la neurotensina PYIL e YIL. En un aspecto, el fragmento se selecciona del grupo que consiste en LYENKPRRPYIL, YENKPRRPYIL, ENKPRRPYIL, NKPRRPYIL, KPRRPYIL, PRRPYIL, RRPYIL, RPYIL, PYIL, YIL e IL, y variantes naturales o artificiales de los mismos. En una realización de la presente descripción, el antagonista no es neurotensina o un fragmento de la misma.

Equivalencia funcional: "Equivalencia funcional" como se usa en la presente descripción, según una realización preferida, se establece por referencia con la correspondiente funcionalidad de un fragmento predeterminado de la secuencia.

Los equivalentes funcionales o variantes de un antagonista del receptor con dominio Vps10p, se entiende que presentan secuencias de aminoácidos que difieren gradualmente del péptido o polipéptido predeterminado preferido, basado en la secuencia del antagonista del dominio Vps10p, al aumentar el número y alcance de inserciones, eliminaciones y sustituciones incluyendo sustituciones conservativas. Esta diferencia se mide como una reducción en la homología entre la secuencia predeterminada preferida y el fragmento o equivalente funcional.

Una variante funcional obtenida por sustitución puede presentar alguna forma o grado de actividad de antagonista del dominio Vps10p natural, y todavía ser menos homólogo, si se sustituyen los restos que contienen cadenas laterales de aminoácidos funcionalmente similares. En este aspecto, funcionalmente similares se refiere a características dominantes de las cadenas laterales tales como hidrófobo, básico, neutro o ácido, o la presencia o ausencia de impedimento estérico. Por consiguiente, en una realización de la descripción, el grado de identidad no es una medida principal de un fragmento que es una variante o equivalente funcional de un fragmento preferido predeterminado, según la presente descripción.

"Silenciamiento" de genes: un procedimiento que conduce a la expresión reducida de genes endógenos. El silenciamiento de genes preferiblemente es el resultado de la reducción postranscripcional de la expresión de genes.

Isquemia global: anoxia resultante de la detención del suministro de sangre a todo el cuerpo dando como resultado el daño tisular por una variedad de mecanismos incluyendo la apoptosis.

Grupo: (resto/sustitución) como se entiende en este campo técnico, un grado alto de sustitución no solo es tolerado, sino que a menudo es aconsejable. En los materiales de la presente descripción, está prevista la sustitución. Como medio para simplificar la descripción y cita de determinada terminología usada a lo largo de esta solicitud, los términos "grupo" y "resto" se usan para diferenciar entre especies químicas que permiten la sustitución o que pueden estar sustituidas, y aquellas que no permiten o no pueden estar sustituidas. Por lo tanto, el término "grupo" se usa para describir un sustituyente químico, el material químico descrito incluye el grupo no sustituido y ese grupo con átomos de O, N y S, por ejemplo, en la cadena así como grupos carbonilo, u otra sustitución convencional. Cuando se usa el término "resto" para describir un compuesto químico o sustituyentes, se pretende que esté incluido solo un material químico no sustituido. Por ejemplo, la frase "grupo alquilo" se pretende que incluya no solo sustituyentes alquilo hidrocarbonado saturado de cadena abierta puro, tales como metilo, etilo, propilo, t-butilo, y similares, sino también sustituyentes alquilo que llevan otros sustituyentes conocidos en la técnica, tales como hidroxilo, alcoxi, alquilsulfonilo, átomos de halógeno, ciano, nitro, amino, carboxilo, etc. Por lo tanto, "grupo alquilo" incluyen grupos éter, halogenoalquilos, nitroalquilos, carboxialquilos, hidroxialquilos, sulfoalquilos, etc. Por otra parte, la frase "resto alquilo" está limitada a la inclusión de solo sustituyentes alquilo hidrocarbonado saturado de cadena abierta, puros, tales como metilo, etilo, propilo, t-butilo, y similares. La misma definición se aplica a "grupo alquenilo" y "resto alquenilo", a "grupo alquinilo" y "resto alquinilo", a "grupo cíclico" y "resto cíclico", a "grupo alicíclico" y "resto alicíclico", a "grupo aromático" o a "grupo arilo" y "resto aromático" o "resto arilo", así como a "grupo heterocíclico" y "resto heterocíclico".

Grupo heterocíclico: la expresión "grupo heterocíclico" significa un hidrocarburo de anillo cerrado, en el que uno o más átomos en el anillo son un elemento distinto de carbono (p. ej., nitrógeno, oxígeno, azufre, etc.).

Heterociclilo significa un radical cíclico saturado monovalente, que consiste en uno a dos anillos, de 3 a 8 átomos por anillo, que incorpora 1 o 2 heteroátomos en el anillo (seleccionados de N, O o S(O)<sub>0-2</sub>), y que puede estar opcionalmente sustituido con 1 o 2 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en hidroxilo, oxo, ciano, alquilo inferior, alcoxi inferior, halogenoalcoxi inferior, alquiltio, halógeno, halogenoalquilo, hidroxialquilo, nitro, alcoxycarbonilo, amino, alquilamino, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, alquilaminosulfonilo, arilaminosulfonilo, alquilsulfonilamino, arilsulfonilamino, alquilaminofarbonilo, arilaminocarbonilo, alquilcarbonilamino, o arilcarbonilamino.

Heteroarilo significa un radical cíclico aromático monovalente que tiene de 1 a 3 anillos, de 4 a 8 átomos por anillo, que incorpora 1 o 2 heteroátomos en el anillo (seleccionados de nitrógeno, oxígeno o azufre) dentro del anillo que puede estar opcionalmente sustituido con 1 o 2 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en hidroxilo, ciano, alquilo inferior, alcoxi inferior, halogenoalcoxi inferior, alquiltio, halo, halogenoalquilo, hidroxialquilo, nitro, alcoxycarbonilo, amino, alquilamino, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, alquilaminosulfonilo, arilaminosulfonilo, alquilsulfonilamino, arilsulfonilamino, alquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo, alquilcarbonilamino y arilcarbonilamino.

Homología: como se usa en la presente memoria debe entenderse como sinónimo de la expresión identidad de secuencia. Por lo tanto, "homólogo con" es sinónimo de "idéntico a". La homología entre secuencias de aminoácidos se puede calcular usando matrices de puntuación bien conocidas, tales como una cualquiera de BLOSUM 30, BLOSUM 40, BLOSUM 45, BLOSUM 50, BLOSUM 55, BLOSUM 60, BLOSUM 62, BLOSUM 65, BLOSUM 70, BLOSUM 75, BLOSUM 80, BLOSUM 85, y BLOSUM 90.

Los fragmentos que comparten homología con fragmentos de las SEQ ID NO: 1 a 13, respectivamente, se considera que están dentro del alcance de la presente invención cuando tienen una homología de al menos aproximadamente 60 por ciento, por ejemplo homología de al menos aproximadamente 65 por ciento, por ejemplo homología de al menos aproximadamente 70 por ciento, por ejemplo homología de al menos aproximadamente 75 por ciento, por ejemplo homología de al menos aproximadamente 80 por ciento, por ejemplo homología de al menos aproximadamente 85 por ciento, por ejemplo homología de al menos aproximadamente 90 por ciento, por ejemplo homología de al menos aproximadamente 92 por ciento, tal como homología de al menos aproximadamente 94 por ciento, por ejemplo homología de al menos aproximadamente 95 por ciento, tal como homología de al menos aproximadamente 96 por ciento, tal como homología de al menos aproximadamente 97 por ciento, tal como homología de al menos aproximadamente 98 por ciento, por ejemplo homología de al menos aproximadamente 99 por ciento, con dichas secuencias de fragmentos predeterminadas, respectivamente. De acuerdo con una realización de la descripción, los porcentajes de homología se refieren a porcentajes de identidad.

Otro método que se puede adaptar de forma adecuada para determinar las relaciones de estructura y función de fragmentos de péptidos se describe en el documento US 6.013.478, que se incorpora en la presente memoria por referencia. Los expertos en la técnica también conocen método de ensayo de la unión de una secuencia de aminoácidos a un resto de receptor.

Además de sustituciones conservativas introducidas en cualquier posición de un péptido o polipéptido predeterminado preferido basado en antagonista del dominio Vps10p, o un fragmento del mismo, también puede ser deseable introducir sustituciones no conservativas en una cualquiera o más posiciones de dicho antagonista.

Una sustitución no conservativa que conduce a la formación de un fragmento funcionalmente equivalente de un péptido o polipéptido basado en el antagonista del dominio Vps10p, por ejemplo, i) diferiría sustancialmente en polaridad, por ejemplo un resto con una cadena lateral polar tal como Gly, Ser, Thr, Cys, Tyr, Asn o Gln, o un aminoácido cargado tal como Asp, Glu, Arg o Lys, sustituido por un resto con una cadena lateral no polar (Ala, Leu, Pro, Trp, Val, Ile, Leu, Phe o Met), o se sustituye un resto no polar por uno cargado o polar; y/o ii) diferiría sustancialmente en su efecto en la orientación de la cadena principal del polipéptido, tal como la sustitución de o por Pro o Gly por otro resto; y/o iii) diferiría sustancialmente en la carga eléctrica, por ejemplo la sustitución de un resto positivamente cargado tal como Lys, His o Arg por un resto negativamente cargado tal como Glu o Asp (y viceversa); y/o iv) diferiría sustancialmente en el impedimento estérico, por ejemplo la sustitución por un resto voluminoso tal como His, Trp, Phe o Tyr, de uno que tiene una cadena lateral menor, p. ej. Ala, Gly o Ser (y viceversa).

Las variantes obtenidas por sustitución de aminoácidos, en una descripción preferida, se pueden hacer basándose en los valores de hidrofobicidad e hidrofiliidad y la similitud relativa de los sustituyentes de las cadenas laterales de aminoácidos, incluyendo carga, tamaño y similares. Las sustituciones de aminoácidos de ejemplo que tienen en cuenta varias de las características anteriores son bien conocidas para los expertos en la técnica e incluyen: arginina y lisina; glutamato y aspartato; serina y treonina; glutamina y asparagina; y valina, leucina e isoleucina.

Además de las variantes descritas en la presente memoria, se pueden formular variantes estéricamente similares para imitar partes clave de la estructura variante, y dichos compuestos también se pueden usar de la misma forma que las variantes de la descripción. Esto se puede lograr por técnicas de modelado y diseño químico conocidas por los expertos en la técnica. Se entenderá que todas dichas construcciones estéricamente similares están dentro del alcance de la presente descripción.

En una realización adicional la presente descripción, se refiere a variantes funcionales que comprenden aminoácidos sustituidos que tienen valores hidrófilos o índices hidropáticos que están dentro de  $\pm 4,9$ , por ejemplo dentro de  $\pm 4,7$ , tal como dentro de  $\pm 4,5$ , por ejemplo dentro de  $\pm 4,3$ , tal como dentro de  $\pm 4,1$ , por ejemplo dentro de  $\pm 3,9$ , tal como dentro de  $\pm 3,7$ , por ejemplo dentro de  $\pm 3,5$ , tal como dentro de  $\pm 3,3$ , por ejemplo dentro de  $\pm 3,1$ , tal como dentro de  $\pm 2,9$ , por ejemplo dentro de  $\pm 2,7$ , tal como dentro de  $\pm 2,5$ , por ejemplo dentro de  $\pm 2,3$ , tal como dentro de  $\pm 2,1$ , por ejemplo dentro de  $\pm 2,0$ , tal como dentro de  $\pm 1,8$ , por ejemplo dentro de  $\pm 1,6$ , tal como dentro de  $\pm 1,5$ , por ejemplo dentro de  $\pm 1,4$ , tal como dentro de  $\pm 1,3$  por ejemplo dentro de  $\pm 1,2$ , tal como dentro de  $\pm 1,1$ , por ejemplo dentro de  $\pm 1,0$ , tal como dentro de  $\pm 0,9$ , por ejemplo dentro de  $\pm 0,8$ , tal

como dentro de +/- 0,7, por ejemplo dentro de +/- 0,6, tal como dentro de +/- 0,5, por ejemplo dentro de +/- 0,4, tal como dentro de +/- 0,3, por ejemplo dentro de +/- 0,25, tal como dentro de +/- 0,2 el valor del aminoácido que se ha sustituido.

- 5 La importancia de los índices hidrófilo e hidropático de aminoácidos para conferir función biológica interactiva en una proteína, se entiende bien en la técnica (Kyte y Doolittle, 1982 y Hopp, patente de EE.UU. nº 4.554.101).

Los valores del índice hidropático de aminoácidos como se usan en la presente memoria son: isoleucina (+4,5); valina (+4,2); leucina (+3,8); fenilalanina (+2,8); cisteína/cistina (+2,5); metionina (+1,9); alanina (+1,8); glicina (-0,4); treonina (-0,7); serina (-0,8); triptófano (-0,9); tirosina (-1,3); prolina (-1,6); histidina (-3,2); glutamato (-3,5); glutamina (-3,5); aspartato (-3,5); asparagina (-3,5); lisina (-3,9); y arginina (-4,5) (Kyte y Doolittle, 1982).

- 10 Los valores de hidrofiliidad de aminoácidos son: arginina (+3,0); lisina (+3,0); aspartato (+3,0.+0,1); glutamato (+3,0.+0,1); serina (+0,3); asparagina (+0,2); glutamina (+0,2); glicina (0); treonina (-0,4); prolina (-0,5.+0,1); alanina (-0,5); histidina (-0,5); cisteína (-1,0); metionina (-1,3); valina (-1,5); leucina (-1,8); isoleucina (-1,8); tirosina (-2,3); fenilalanina (-2,5); triptófano (-3,4) (documento U.S. 4.554.101).

- 15 Además de los compuestos de peptidilo descritos en la presente memoria, se pueden formular compuestos estéricamente similares para imitar partes clave de la estructura peptídica y dichos compuestos también se pueden usar de la misma forma que los péptidos usados en la invención.

- 20 Esto se puede lograr mediante técnicas de modelado y diseño químico conocidas para los expertos en la técnica. Por ejemplo, se puede usar la esterificación y otras alquilaciones para modificar los extremos amino, por ejemplo, de una cadena principal de péptido diarginina, para imitar una estructura de tetrapéptido. Se entenderá que todas dichas construcciones estéricamente similares están dentro del alcance de la presente descripción.

- 25 También están abarcados en la presente invención péptidos con alquilaciones N-terminales y esterificaciones C-terminales. Los equivalentes funcionales también comprenden glicosilados y conjugados covalentes o agregativos formados con el mismo u otros antagonistas del dominio Vps10p, incluyendo dímeros o restos químicos no relacionados. Dichos equivalentes funcionales se preparan por unión de grupos funcionales a grupos que se encuentran en el fragmento, incluyendo en cualquiera o ambos de los extremos N y C, por medios conocidos en la técnica.

- 30 Por lo tanto, los equivalentes funcionales pueden comprender fragmentos conjugados a ésteres alifáticos o de acilo o amidas del extremo carboxilo, alquilaminas o restos que contienen cadenas laterales carboxilo, p. ej., conjugados con alquilaminas en los restos de ácido aspártico; derivados de O-acilo de restos que contienen grupo hidroxilo y derivados de N-acilo del amino del aminoácido terminal o de restos que contienen grupo amino, p. ej., conjugados con fMet-Leu-Phe o proteínas inmunógenas. Los derivados de los grupos acilo se seleccionan del grupo de restos alquilo (incluyendo alquilo normal de C3 a C10), formando así especies de alcanilo, y compuestos carbocíclicos o heterocíclicos, formando así especies aroilo. Los grupos reactivos preferiblemente son compuestos difuncionales conocidos para usar en el entrecruzamiento de proteínas en matrices insolubles por los grupos laterales reactivos.

- 35 Los equivalentes funcionales covalentes o agregativos y derivados de los mismos, son útiles como reactivos en inmunoensayos o para procedimientos de purificación por afinidad. Por ejemplo, un fragmento de un péptido antagonista del dominio Vps10p según la presente descripción, se puede insolubilizar por unión covalente a Sepharose activada con bromuro de cianógeno, por métodos conocidos, o se puede adsorber a superficies poliolefinicas, con o sin entrecruzamiento con glutaraldeído, para usar en un ensayo o purificación de anticuerpos anti-dominio Vps10p o receptores de superficie celular. También se pueden marcar fragmentos con un grupo detectable, p. ej., radioyodado por el procedimiento de cloramina T, unido covalentemente a quelatos de tierras raras, o conjugado con otro resto fluorescente para usar, p. ej., en ensayos de diagnóstico.

- 40 La mutagénesis de un fragmento predeterminado preferido de un péptido basado en antagonista del dominio Vps10p se puede llevar a cabo haciendo inserciones de aminoácidos, normalmente del orden de aproximadamente 1 a 10 restos de aminoácidos, preferiblemente de aproximadamente 1 a 5 restos de aminoácidos, o eliminaciones de aproximadamente 1 a 10 restos, tal como de aproximadamente 2 a 5 restos.

- 50 En una realización, el ligando del sitio de unión 1, 2 o 3, es un oligopéptido sintetizado por síntesis automática. Se puede usar cualquiera de las técnicas en fase sólida disponibles en el comercio, tal como el método de síntesis en fase sólida de Merrifield, en el que se añaden secuencialmente restos de aminoácidos a una cadena de aminoácidos en crecimiento (véase, *J. Am. Chem. Soc.* 85:2149-2146, 1963).

- 55 El equipo para la síntesis automática de polipéptidos está disponible en el comercio de proveedores tales como Applied Biosystems, Inc. de Foster City, Calif., y en general se pueden manejar de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La síntesis en fase sólida permitirá la incorporación de sustituciones de aminoácidos deseables en cualquier fragmento de un péptido basado en antagonista del dominio Vps10p según la presente descripción. Se entenderá que las sustituciones, eliminaciones, inserciones o cualquier subcombinación de los mismos, se pueden combinar para llegar a una secuencia final de un equivalente funcional. Debe entenderse que las inserciones incluyen fusiones de amino-terminales y/o carboxilo-terminales, p. ej., con una proteína hidrófoba o inmunógena, o

un vehículo tal como cualquier polipéptido o estructura de armazón capaz de servir como un vehículo.

También se proporcionan oligómeros incluyendo dímeros, que incluyen homodímeros y heterodímeros, de fragmentos de inhibidores de sortilina y están dentro del alcance de la descripción. Los equivalentes funcionales y variantes del péptido o polipéptido antagonista del dominio Vps10p se pueden producir como homodímeros o heterodímeros con otras secuencias de aminoácidos, o con secuencias de inhibidor de sortilina naturales. Los heterodímeros incluyen dímeros que contienen fragmentos de inhibición de sortilina inmunorreactivos, así como fragmentos de inhibición de sortilina que no es necesario que tengan o ejerzan ninguna actividad biológica.

Los antagonistas del receptor con dominio Vps10p que incluyen, pero no se limitan a fragmentos de péptido inhibidor de sortilina se pueden sintetizar tanto in vitro como in vivo. Los métodos para la síntesis in vitro son bien conocidos, y también se describen en la técnica anterior métodos que son adecuados o que se pueden adaptar de forma adecuada a la síntesis in vivo de inhibidores de sortilina. Cuando se sintetizan in vivo, una célula hospedante se transforma con vectores que contienen ADN que codifica un péptido inhibidor de sortilina o un fragmento del mismo. Un vector se define como una construcción de ácido nucleico que se puede replicar. Los vectores se usan para mediar la expresión de un péptido basado en antagonista del dominio Vps10p. Un vector de expresión es una construcción de ADN que se puede replicar, en la que una secuencia de ácido nucleico que codifica el fragmento inhibidor de sortilina predeterminado, o cualquier equivalente funcional del mismo que se pueda expresar in vivo, está operativamente unida a secuencias de control adecuadas capaces de llevar a cabo la expresión del fragmento o equivalente en un hospedante adecuado. Dichas secuencias de control son bien conocidas en la técnica. Se pueden usar tanto células procariotas como eucariotas para la síntesis de ligandos. Sin embargo, los cultivos de células derivadas de organismos multicelulares representan células hospedantes preferidas. En principio, se puede trabajar con cualquier cultivo de células eucariotas superiores, sea de un cultivo de vertebrado o invertebrado. Los ejemplos de líneas celulares de hospedante útiles son células VERO y HeLa, líneas celulares de ovario de hámster chino (CHO), y líneas celulares WI38, BHK, COS-7, 293 y MDCK. Las células hospedantes preferidas son células eucariotas que se sabe que sintetizan inhibidores de sortilina endógenos. Los cultivos de dichas células hospedantes se pueden aislar y usar como una fuente del fragmento, o usar en métodos de tratamiento terapéuticos, incluyendo métodos terapéuticos dirigidos a promover o inhibir un estado de crecimiento, o métodos de diagnóstico llevados a cabo en el cuerpo humano o animal.

Enlace hidrófobo: La expresión "enlace hidrófobo" como se usa en la presente memoria se refiere a una fuerza de atracción, o puente, que puede haber entre un átomo de hidrógeno que está unido covalentemente a un átomo electronegativo, por ejemplo, oxígeno, azufre o nitrógeno, y otro átomo electronegativo. El enlace de hidrógeno puede ser entre un átomo de hidrógeno en una primera molécula y un átomo electronegativo en una segunda molécula (enlace de hidrógeno intermolecular). El enlace de hidrógeno también puede estar entre un átomo de hidrógeno y un átomo electronegativo que están ambos contenidos en una sola molécula (enlace de hidrógeno intramolecular).

Interacción hidrófoba: La expresión "interacción hidrófoba" como se usa en la presente memoria, se refiere a cualquier interacción que ocurre entre componentes esencialmente no polares (hidrófobos) dentro de un intervalo de atracción de una con otra en un entorno polar (p. ej., agua). Como se usa en la presente memoria, el intervalo de atracción es en la escala desde 0,1 hasta 2 nm. Un tipo particular de interacción hidrófoba es la ejercida por las "fuerzas de Van der Waals", es decir, las fuerzas atractivas entre moléculas no polares explicadas por mecánica cuántica. Las fuerzas de Van der Waals en general están asociadas con momentos dipolares momentáneos que son inducidos por moléculas vecinas y que implican cambios en la distribución de electrones.

Hiperlipidemia: que también se conoce como hiperlipoproteinemia o dislipidemia, es la presencia de niveles elevados o anómalos de lípidos y/o lipoproteínas en la sangre. Los lípidos (moléculas grasas) son transportados en una cápsula de proteína, y la densidad de los lípidos y el tipo de proteína, determinan el destino de la partícula y su influencia en el metabolismo. Las anomalías en lípidos y lipoproteínas son extremadamente comunes en la población general, y se consideran como un factor de riesgo altamente modificable para la enfermedad cardiovascular, debido a la influencia del colesterol, una de las sustancias lipídicas clínicamente más relevantes, en la aterosclerosis. Además, algunas formas pueden predisponer a la pancreatitis aguda. La hiperlipoproteinemia se puede clasificar en los siguientes subtipos:

Hiperlipidemia como se usa en la presente memoria, debe entenderse como una afección caracterizada por concentraciones en el plasma sanguíneo de HDL-colesterol y/o LDL-colesterol y/o triglicéridos mayores que los valores recomendados citados en la tabla 1 en la presente memoria.

Hiperlipoproteinemia de tipo I

Esta forma muy rara (conocida también como síndrome de Buerger-Gruetz, hiperlipoproteinemia primaria, o hiperquilomicronemia familiar) se debe a una deficiencia de la lipoproteína lipasa (LPL) o apolipoproteína C2 alterada, produciendo quilomicrones elevados, las partículas que transfieren los ácidos grasos del tracto digestivo al hígado. La lipoproteína lipasa también es responsable de la rotura inicial de los triacilglicéridos hechos de forma endógena en la forma de lipoproteína de muy baja densidad (VLDL). Como tal, se esperaría que un defecto en la LPL diera como resultado también VLDL elevada. Su prevalencia es de 0,1% de la población.

#### Hiperlipoproteinemia de tipo II

La hiperlipoproteinemia de tipo II, es con mucho la más común, se clasifica además en tipo IIa y tipo IIb, dependiendo principalmente en si hay elevación en el nivel de triglicéridos además del LDL-colesterol.

#### Hiperlipoproteinemia de tipo IIa

- 5 Hipercolesterolemia familiar - Esta puede ser esporádica (debido a factores de la dieta), poligénica, o realmente familiar como resultado de una mutación en el gen del receptor de LDL en el cromosoma 19 (0,2% de la población) o el gen de la ApoB (0,2%). La forma familiar se caracteriza por xantoma tendinoso, xantelasma y enfermedad cardiovascular prematura.

#### Hiperlipoproteinemia de tipo IIb

- 10 Los niveles altos de VLDL se deben al exceso de producción de sustratos, incluyendo triglicéridos, acetil CoA, y un aumento de la síntesis de B-100. También puede estar causada por la disminución de la eliminación de la LDL. La prevalencia en la población es 10%.

#### Hiperlipoproteinemia familiar combinada (HFC)

- 15 Hiperlipoproteinemia combinada secundaria (normalmente en el contexto de síndrome metabólico, para el que hay un criterio de diagnóstico). Aunque la modificación de la dieta es el procedimiento inicial para el tratamiento de los tipos de hiperlipoproteinemia mencionados, muchos pacientes requieren el tratamiento con estatinas (inhibidores de la HMG-CoA reductasa) para reducir el riesgo cardiovascular. Si el nivel de triglicéridos es notablemente elevado, pueden ser preferibles los fibratos debidos a sus efectos beneficiosos. El tratamiento de combinación de estatinas con fibratos, aunque es muy eficaz, produce un riesgo notablemente mayor de miopatía y rhabdomiolisis, y por lo tanto solo se hace bajo una estrecha supervisión. Otros agentes añadidos normalmente a las estatinas son ezetimiba, niacina y secuestrantes de ácidos biliares. Hay algunas pruebas del beneficio de los productos que contienen esteroides vegetales y ácidos grasos  $\omega$ 3. La presente invención proporciona una nueva estrategia para controlar los niveles de lípidos de los pacientes que lo necesiten.
- 20

#### Hiperlipoproteinemia de tipo III

- 25 Esta forma se debe a quilomicrones e IDL (lipoproteína de densidad intermedia) elevados. También conocida como enfermedad de la beta ancha o disbetalipoproteinemia, la causa más común de esta forma es la presencia del genotipo ApoE E2/E2. Se debe a las VLDL ricas en colesterol ( $\beta$ -VLDL). La prevalencia es 0,02% de la población.

#### Hiperlipoproteinemia de tipo IV

- 30 Esta forma se debe a triglicéridos elevados. Se conoce como hipertrigliceridemia (o hipertrigliceridemia pura). De acuerdo con la definición de NCEP-ATPIII de triglicéridos elevados ( $>200$  mg/dl), la prevalencia es aproximadamente 16% de la población adulta.

#### Hiperlipoproteinemia de tipo V

- 35 Este tipo es muy similar a la hiperlipoproteinemia de tipo I, pero con VLDL elevada además de quilomicrones. También está asociada con intolerancia a la glucosa e hiperuricemia. Además, las formas no clasificadas y raras incluyen lipoproteinemia hipo-alfa.

Los antagonistas según la presente invención se pueden usar para la preparación de un medicamento para el tratamiento o prevención de la hiperlipoproteinemia I, IIa, IIb, III, IV y V.

- 40 Inhibición: El término inhibición como se usa en la presente memoria, se refiere a la prevención de la unión entre dos o más componentes. Los ligandos identificados por la presente descripción son capaces de inhibir la unión entre un receptor con dominio Vps10p y una proneutrotrofina.

- 45 Unión inhibidora: La expresión unión inhibidora entre p. ej., una proneutrotrofina y una sortilina, como se usa en la presente memoria se refiere a un método para proporcionar un ligando identificado por la presente descripción, siendo dicho ligando capaz de prevenir la unión de una proneutrotrofina al sitio de unión 3 de la sortilina, previniendo así la formación de un complejo ternario entre sortilina, proNGF y p75<sup>NTR</sup> o cualquier fragmento o variante del mismo. La expresión unión inhibidora puede referirse también a la unión inhibidora de la neurotensina y/o péptido de sortilina al sitio de unión 1 o 2 del receptor con dominio Vps10p sortilina.

In vitro/in vivo: los términos se usan con su significado normal.

In silico: un método de llevar a cabo una operación in vitro o in vivo por simulación con ordenador.

Isquemia: Restricción del suministro de sangre con disfunción o daño tisular resultante.

- 50 Daño tisular isquémico: Daño tisular debido a isquemia.

Ligando: una sustancia o compuesto que es capaz de unirse y formar un complejo con una biomolécula para servir para un fin biológico. En un sentido más estrecho, es una molécula que produce una señal al unirse a un sitio en una proteína diana, por fuerzas intermoleculares tales como enlaces iónicos, enlaces de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals. El acoplamiento (asociación) normalmente es reversible (disociación). La unión covalente irreversible real entre un ligando y su molécula diana es rara en los sistemas biológicos. A diferencia del significado en química metalorgánica e inorgánica, es irrelevante si el ligando se une realmente o no a un sitio de metal, como es el caso en la hemoglobina. La unión de ligando a receptores puede alterar la conformación química, es decir, la forma tridimensional de la proteína receptora. El estado conformacional de una proteína receptora determina el estado funcional de un receptor. La tendencia o fuerza de la unión se llama afinidad. Los ligandos incluyen sustratos, inhibidores, activadores y neurotransmisores. Los radioligandos son compuestos marcados con radioisótopos y se usan in vivo como trazadores en estudios de PET y en estudios de unión in vitro.

Restos de un compuesto particular cubre grupo(s) o parte(s) de dicho compuesto particular.

Agente farmacéutico: Las expresiones “agente farmacéutico” o “fármaco” o “medicamento”, se refieren a cualquier agente terapéutico o profiláctico que se puede usar en el tratamiento (incluyendo prevención, diagnóstico, alivio o cura) de una dolencia, indisposición, afección, enfermedad o lesión en un paciente. Se pueden incluir determinantes genéticos, péptidos, polipéptidos y polinucleótidos terapéuticamente útiles, en el significado de la expresión agente farmacéutico o fármaco. Como se define en la presente memoria, un “agente terapéutico”, “agente farmacéutico” o “fármaco” o “medicamento” es un tipo de agente bioactivo.

Composición farmacéutica: o fármaco, medicamento o agente, se refieren a cualquier material, compuesto o composición químicos o biológicos capaces de inducir un agente terapéutico deseado cuando se administran de forma adecuada a un paciente. Algunos de los fármacos se venden en forma inactiva que se convierte in vivo en un metabolito con actividad farmacéutica. Para los propósitos de la presente invención, las expresiones “composición farmacéutica” y “medicamento” abarcan tanto el fármaco inactivo como el metabolito activo.

Polipéptido: El término “polipéptido” como se usa en la presente memoria, se refiere a una molécula que comprende al menos dos aminoácidos. Los aminoácidos pueden ser naturales o sintéticos. Los “oligopéptidos” se definen en la presente memoria como polipéptidos de longitud no mayor de 100 aminoácidos. El término “polipéptido” se pretende que incluya también proteínas, es decir, biomoléculas funcionales que comprenden al menos un polipéptido; cuando comprenden al menos dos polipéptidos, estos pueden formar complejos, estar unidos covalentemente o pueden estar unidos de forma no covalente. Los polipéptidos en una proteína pueden estar glicosilados y/o comprender lípidos y/o comprender grupos prostéticos.

Polinucleótido: “Polinucleótido” como se usa en la presente memoria, se refiere a una molécula que comprende al menos dos ácidos nucleicos. Los ácidos nucleicos pueden ser naturales o modificados, tales como ácidos nucleicos bloqueados (LNA) o ácidos nucleicos peptídicos (PNA). Polinucleótido como se usa en la presente memoria en general se refiere a

i) un polinucleótido que comprende una secuencia codificante determinada, o

ii) un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos predeterminada, o

iii) un polinucleótido que codifica un fragmento de un polipéptido codificado por los polinucleótidos (i) o (ii), en donde dicho fragmento tiene al menos una actividad predeterminada como se especifica en la presente memoria; y

iv) un polinucleótido cuya cadena complementaria hibrida en condiciones restrictivas con un polinucleótido como se define en uno cualquiera de (i), (ii) y (iii), y codifica un polipéptido, o un fragmento del mismo, que tiene a menos una actividad predeterminada como se especifica en la presente memoria; y

v) un polinucleótido que comprende una secuencia de nucleótidos que es degenerada con respecto a la secuencia de nucleótidos de los polinucleótidos (iii) o (iv);

o la cadena complementaria de dicho polinucleótido.

Anticuerpo purificado: La expresión un “anticuerpo purificado” es un anticuerpo 60% al menos del cual carece de polipéptidos y moléculas orgánicas que se encuentran de forma natural, con los que está naturalmente asociado. Preferiblemente, la preparación comprende el anticuerpo en una cantidad de al menos 75 por ciento en peso, más preferiblemente al menos 90% en peso, y lo más preferiblemente al menos 99 por ciento en peso. Preferiblemente el anticuerpo de la presente invención es un anticuerpo de conejo anti-sortilina.

Desviación media cuadrática: La expresión “desviación media cuadrática” (rmsd) se usa como medio de comparación de dos estructuras estrechamente relacionadas, y se refiere a una desviación en la distancia entre átomos relacionados de las dos estructuras después de minimizar estructuralmente esta distancia en un alineamiento. Proteínas relacionadas con estructuras estrechamente relacionadas se caracterizarán por valores de RMSD relativamente bajos, mientras que mayores diferencias darán como resultado un aumento del valor de la RMSD.

Identidad de secuencia: La identidad de secuencia se determina en una realización usando fragmentos de un péptido o polipéptido basado en antagonista del dominio Vps10p, que comprenden al menos 25 aminoácidos contiguos y que tienen una secuencia de aminoácidos que es al menos 80%, tal como 85%, por ejemplo 90%, tal como 95%, por ejemplo 99% idéntica con la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 15 respectivamente, en donde el porcentaje de identidad se determina con el algoritmo GAP, BESTFIT, o FASTA en el Wisconsin Genetics Package Release 7.0, usando los pesos de los huecos por defecto.

Las siguientes expresiones se usan para describir las relaciones de secuencia entre dos o más polinucleótidos: "secuencia predeterminada", "ventana de comparación", "identidad de secuencia", "porcentaje de identidad de secuencia" e "identidad sustancial".

Una "secuencia predeterminada" es una secuencia definida usada como una base para una comparación de secuencias; una secuencia predeterminada puede ser un subconjunto de una secuencia más larga, por ejemplo, como un segmento de un ADN o secuencia de gen de longitud completa dado en una lista de secuencias, tal como una secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 1, o puede comprender un ADN o secuencia de gen completo. En general, una secuencia predeterminada es de al menos 20 nucleótidos de longitud, con frecuencia al menos 25 nucleótidos de longitud, y a menudo al menos 50 nucleótidos de longitud.

Puesto que dos polinucleótidos puede cada uno (1) comprender una secuencia (es decir, una parte de la secuencia de polinucleótido completa) que es similar entre los dos polinucleótidos, y (2) pueden comprender además una secuencia que es divergente entre los dos polinucleótidos, las comparaciones de secuencias entre dos (o más) polinucleótidos típicamente se llevan a cabo comparando secuencias de los polinucleótidos a lo largo de una "ventana de comparación" para identificar y comparar regiones locales de similitud de secuencia. Una "ventana de comparación" como se usa en la presente memoria, se refiere a un segmento conceptual de al menos 20 posiciones de nucleótidos contiguos en donde una secuencia de polinucleótido se puede comparar con una secuencia predeterminada de al menos 20 nucleótidos contiguos, y en donde la parte de la secuencia de polinucleótido en la ventana de comparación puede comprender adiciones o eliminaciones (es decir, huecos) de 20 por ciento o menos comparado con la secuencia predeterminada (que no comprende adiciones o eliminaciones) para el alineamiento óptimo de las dos secuencias.

El alineamiento óptimo de secuencias para alinear una ventana de comparación se puede llevar a cabo por el algoritmo de homología local de Smith y Waterman (1981) *Adv. Appl. Math.* 2: 482, por el algoritmo de alineamiento de homología de Needleman y Wunsch (1970) *J. Mol. Biol.* 48: 443, por la búsqueda por el método de similitud de Pearson y Lipman (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 85: 2444, por implementaciones computarizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA, y TFASTA en el Wisconsin Genetics Software Package Release 7.0, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.), o por inspección, y se selecciona el mejor alineamiento (es decir, el que produce el mayor porcentaje de homología a lo largo de la ventana de comparación) generado por diferentes métodos.

La expresión "identidad de secuencia" significa que dos secuencias de polinucleótidos son idénticas (es decir, basándose en nucleótido a nucleótido) a lo largo de la ventana de comparación. La expresión "porcentaje de identidad de secuencia" se calcula comparando dos secuencias alineadas de forma óptima a lo largo de la ventana de comparación, determinando el número de posiciones en las que hay base de ácido nucleico idéntica (p. ej., A, T, C, G, U o I) en ambas secuencias para dar para dar el número de posiciones emparejadas, dividiendo el número de posiciones emparejadas entre el número total de posiciones en la ventana de comparación (es decir, el tamaño de la ventana), y multiplicando el resultado por 100 para dar el porcentaje de identidad de secuencia. La expresión "identidad sustancial" como se usa en la presente memoria, indica una característica de una secuencia de polinucleótido, en la que el polinucleótido comprende una secuencia que tiene una identidad de secuencia de al menos 85 por ciento, preferiblemente identidad de secuencia de al menos 90 a 95 por ciento, más habitualmente identidad de secuencia de al menos 99 por ciento, comparada con una secuencia predeterminada a lo largo de una ventana de comparación de al menos 20 posiciones de nucleótidos, con frecuencia a lo largo de una ventana de al menos 25-50 nucleótidos, en donde el porcentaje de la identidad de secuencia se calcula comparando la secuencia predeterminada con la secuencia de polinucleótido que puede incluir eliminaciones o adiciones en un total de 20 por ciento o menos de la secuencia predeterminada a lo largo de la ventana de comparación. La secuencia predeterminada puede ser un subconjunto de una secuencia más larga, por ejemplo, como un segmento de la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 1 de longitud entera ilustrada en la presente memoria.

Aplicado a los polipéptidos, un grado de identidad de secuencias de aminoácidos es una función del número de aminoácidos idénticos en posiciones compartidas por las secuencias de aminoácidos. Un grado de homología o similitud de secuencias de aminoácidos es una función del número de aminoácidos, es decir, estructuralmente relacionados, en posiciones compartidas por las secuencias de aminoácidos.

Una secuencia "no relacionada" o "no homóloga" comparte una identidad menor de 40%, pero preferiblemente una identidad menor de 25%, con un péptido o polipéptido basado en el antagonista del dominio Vps10p de la presente descripción. La expresión "identidad sustancial" significa que dos secuencias de péptidos, cuando están alineadas

de forma óptima, tal como por los programas GAP o BESTFIT que usan los pesos de huecos por defecto, comparten una identidad de secuencia de al menos 80 por ciento, preferiblemente una identidad de secuencia de al menos 90 por ciento, más preferiblemente una identidad de secuencia de al menos 95 por ciento o más (p. ej., una identidad de secuencia de 99 por ciento). Preferiblemente, las posiciones de los restos que no son idénticos difieren por

5 sustituciones de aminoácidos conservativas.

Las sustituciones de aminoácidos conservativas se refieren a la intercambiabilidad de restos que tienen cadenas laterales similares. Por ejemplo, un grupo de aminoácidos que tiene en cadenas laterales alifáticas es glicina, alanina, valina, leucina, e isoleucina; un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales que tienen hidroxilo alifático es serina y treonina, un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales que contienen amida es

10 asparagina y glutamina; un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales aromáticas es fenilalanina, tirosina, y triptófano; un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales básicas es lisina, arginina, e histidina; y un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales que contienen azufre es cisteína y metionina. Los grupos de sustituciones de aminoácidos conservativas preferidas son: valina-leucina-isoleucina, fenilalanina-tirosina, lisina-arginina, alanina-valina, y asparagina-glutamina.

15 Adicionalmente, las variantes también se determinan basándose en un número predeterminado de sustituciones de aminoácidos conservativas como se define en la presente memoria más adelante. La sustitución de aminoácido conservativa como se usa en la presente memoria, se refiere a la sustitución de un aminoácido (dentro de un grupo predeterminado de aminoácidos) por otro aminoácido (dentro del mismo grupo) en donde los aminoácidos presentan características similares o sustancialmente similares.

20 Dentro del significado de la expresión “sustitución de aminoácido conservativa” como se aplica en la presente memoria, un aminoácido se puede sustituir por otro dentro de los grupos de aminoácidos indicados en la presente memoria a continuación:

i) Aminoácidos que tienen cadenas laterales polares (Asp, Glu, Lys, Arg, His, Asn, Gln, Ser, Thr, Tyr y Cys),

ii) Aminoácidos que tienen cadenas laterales no polares (Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Phe, Trp, Pro y Met)

25 iii) Aminoácidos que tienen cadenas laterales alifáticas (Gly, Ala Val, Leu, Ile)

iv) Aminoácidos que tienen cadenas laterales cíclicas (Phe, Tyr, Trp, His, Pro)

v) Aminoácidos que tienen cadenas laterales aromáticas (Phe, Tyr, Trp)

vi) Aminoácidos que tienen cadenas laterales ácidas (Asp, Glu)

vii) Aminoácidos que tienen cadenas laterales básicas (Lys, Arg, His)

30 viii) Aminoácidos que tienen cadenas laterales de amida (Asn, Gln)

ix) Aminoácidos que tienen cadenas laterales con hidroxilo (Ser, Thr)

x) Aminoácidos que tienen cadenas laterales que contienen azufre (Cys, Met),

xi) Aminoácidos neutros, débilmente hidrófobos (Pro, Ala, Gly, Ser, Thr)

xii) Aminoácidos ácidos, hidrófilos (Gln, Asn, Glu, Asp), y

35 xiii) Aminoácidos hidrófobos (Leu, Ile, Val)

Por consiguiente, una variante o uno de sus fragmentos según la descripción puede comprender, dentro de la misma variante de la secuencia o sus fragmentos, o entre diferentes variantes de la secuencia o sus fragmentos, al menos una sustitución tal como una pluralidad de sustituciones introducidas independientemente entre sí.

40 Está claro a partir del esquema anterior, que la misma variante o su fragmento puede comprender más de una sustitución de aminoácido conservativa de más de un grupo de aminoácidos conservativos como se ha definido antes en la presente memoria.

La adición o eliminación de al menos un aminoácido puede ser una adición o eliminación preferiblemente de 2 a 250 aminoácidos, tal como de 10 a 20 aminoácidos, por ejemplo de 20 a 30 aminoácidos, tal como de 40 a 50 aminoácidos. Sin embargo, adiciones o eliminaciones de más de 50 aminoácidos, tal como adiciones de 50 a 100 aminoácidos, adición de 100 a 150 aminoácidos, adición de 150-250 aminoácidos, también están comprendidas dentro de la presente invención. La eliminación y/o adición puede ser, independientemente entre sí, una eliminación y/o una adición dentro de una secuencia y/o en el extremo de una secuencia.

45

ARNip: “ARN interferente pequeño” (ARNip) es una molécula de ARN bicatenaria, corta (a menudo, pero no restringido, de menos de 30 nucleótidos de longitud) capaz de producir el silenciamiento específico de genes en

50 células de mamífero.

Alquilo inferior sustituido significa un alquilo inferior que tiene de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados del grupo que consiste en hidroxilo, alcoxi, amino, amido, carboxilo, acilo, halógeno, ciano, nitro y tiol.

Tratamiento: El término "tratamiento" como se usa en la presente memoria, se refiere a un método que implica terapia, incluyendo cirugía, de una afección clínica en un individuo, incluyendo un cuerpo humano o animal. La terapia puede ser de mejora, curativa o profiláctica, es decir, que reduce el riesgo de adquirir la enfermedad.

Variantes: El término "variantes" como se usa en la presente memoria, se refiere a variantes de secuencias de aminoácidos, teniendo preferiblemente dichas variantes de secuencias una identidad de al menos 60%, por ejemplo identidad de al menos 63%, tal como identidad de al menos 66%, por ejemplo identidad de secuencia de al menos 70%, por ejemplo identidad de secuencia de al menos 72%, por ejemplo identidad de secuencia de al menos 75%, por ejemplo identidad de secuencia de al menos 80%, tal como identidad de secuencia de al menos 85%, por ejemplo identidad de secuencia de al menos 90%, tal como identidad de secuencia de al menos 91%, por ejemplo identidad de secuencia de al menos 92%, por ejemplo identidad de secuencia de al menos 93%, tal como identidad de secuencia de al menos 94%, por ejemplo identidad de secuencia de al menos 95%, tal como identidad de secuencia de al menos 96%, por ejemplo identidad de secuencia de al menos 97%, tal como identidad de secuencia de al menos 98%, por ejemplo identidad de secuencia de 99% con cualquiera de las secuencias predeterminadas. Las variantes de neurotensina incluyen, pero no se limitan a variantes artificiales de la neurotensina tales como NT69L.

Regulación por aumento de la expresión: un proceso que conduce al aumento de expresión de genes, preferiblemente de genes endógenos.

Antagonista/inhibidor del receptor con dominio Vps10p

En un aspecto principal la presente invención se refiere a un anticuerpo para usar en un método de tratamiento y/o prevención de concentraciones plasmáticas de lípidos anómalas en un animal, en donde dicho anticuerpo antagonista es capaz de unirse a un receptor de sortilina inhibiendo así la actividad de dicho receptor de sortilina.

En un aspecto principal la presente invención se refiere al uso de al menos un antagonista capaz de unirse al receptor con dominio Vps10p sortilina (SEQ ID NO. 1) o uno de sus fragmentos o variantes, inhibiendo así la actividad de dicho receptor con dominio Vps10p sortilina (SEQ ID NO. 1), en la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de concentraciones plasmáticas de lípidos anómalas en un animal.

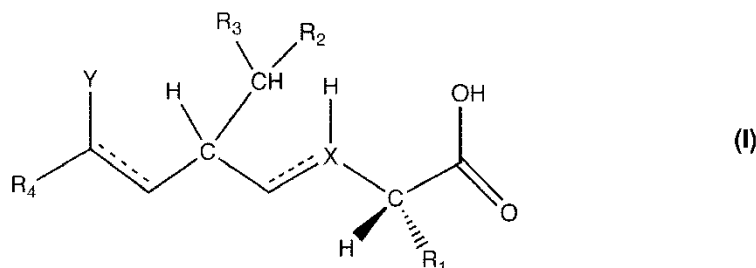
En un aspecto principal la presente invención se refiere al uso de al menos un antagonista capaz de unirse al receptor con dominio Vps10p SorLa (SEQ ID NO. 2) o uno de sus fragmentos o variantes, inhibiendo así la actividad de dicho receptor con dominio Vps10p SorLa (SEQ ID NO. 2), en la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de concentraciones plasmáticas de lípidos anómalas en un animal.

En un aspecto principal la presente invención se refiere al uso de al menos un antagonista capaz de unirse al receptor con dominio Vps10p SorCS1 (SEQ ID NO. 3) o uno de sus fragmentos o variantes, inhibiendo así la actividad de dicho receptor con dominio Vps10p SorCS1 (SEQ ID NO. 3), en la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de concentraciones plasmáticas de lípidos anómalas en un animal.

En un aspecto principal la presente invención se refiere al uso de al menos un antagonista capaz de unirse al receptor con dominio Vps10p SorCS2 (SEQ ID NO. 4) o uno de sus fragmentos o variantes, inhibiendo así la actividad de dicho receptor con dominio Vps10p SorCS2 (SEQ ID NO. 4), en la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de concentraciones plasmáticas de lípidos anómalas en un animal.

En un aspecto principal la presente invención se refiere al uso de al menos un antagonista capaz de unirse al receptor con dominio Vps10p SorCS3 (SEQ ID NO. 5) o uno de sus fragmentos o variantes, inhibiendo así la actividad de dicho receptor con dominio Vps10p SorCS3 (SEQ ID NO. 5), en la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de concentraciones plasmáticas de lípidos anómalas en un animal.

En un aspecto principal de la presente descripción, el antagonista tiene la estructura general de fórmula (I):



en donde X es un átomo que actúa como donador de hidrógeno, seleccionado dicho átomo del grupo que consiste en N, O, S, P y en donde

Y es un átomo electronegativo que actúa como aceptor de enlace de hidrógeno seleccionado del grupo que consiste en O, N, S, F, Cl, Br, I, y en donde

R<sub>1</sub> es alquilo C3-6, ciclilo C4-6, una estructura heterocíclica o heteroaromática que tiene 1 anillo, de 4 a 6 miembros en el anillo en cada uno y de 1 a 3 heteroátomos, o un heteroalquilo que comprende de 1 a 3 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en N, O, S(O)<sub>0-2</sub>, y en donde

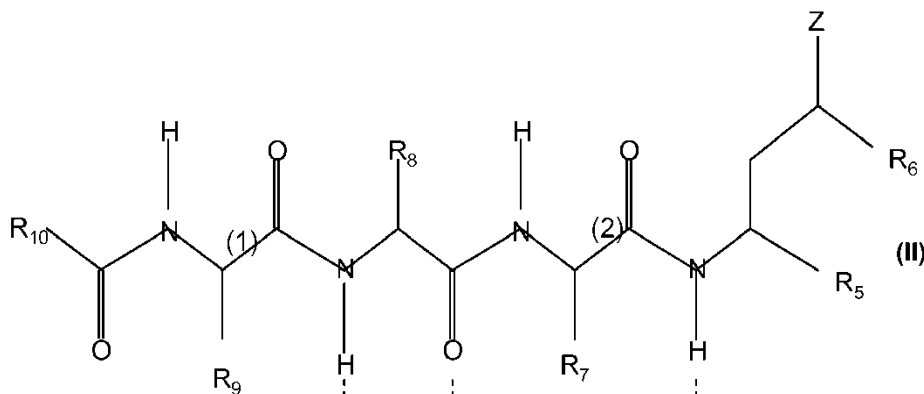
R<sub>2</sub> es hidrógeno, un alquilo C1-12 o una estructura aromática, carbocíclica, heterocíclica o heteroaromática que tiene 1-3 anillos, 3-8 miembros en el anillo en cada uno, y 0-4 heteroátomos, o un heteroalquilo que comprende de 1 a 8 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste N, O, S(O)<sub>0-2</sub>, y en donde

R<sub>3</sub> es hidrógeno, SH, imidazol, alquilo C1-12 o una estructura aromática, carbocíclica, heterocíclica o heteroaromática que tiene 1-3 anillos, 3-8 miembros en el anillo en cada uno, y 0-4 heteroátomos, o un heteroalquilo que comprende de 1 a 8 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en N, O, S, y en donde

R<sub>4</sub> se selecciona de los grupos funcionales alquilo lineal o ramificado C1-100, alqueno lineal o ramificado, alquino lineal o ramificado, fenilo, bencilo, halogenoalcano, cloroalcano, bromoalcano, yodoalcano, halogenoformilo, hidroxilo, carbonilo, aldehído, éster de carbonato, carboxilato, carboxilo, éter, éster, hidroperoxi, peroxi, carboxamida, amina primaria, amina secundaria, amina terciaria, amonio, cetimina primaria, cetimina secundaria, aldimina primaria, aldimina secundaria, imida, azida, azo (diimida), cianato, isocianuro, isotiocianato, nitrato, nitrilo, nitrosooxi, nitro, nitroso, piridilo, fosfino, fosfato, fosfono, sulfonilo, sulfínilo, sulfhidrilo (SH), tiocianato, disulfuro, un conector L2 o L3, y una secuencia de aminoácidos que es al menos 50% idéntica a la SEQ ID NO: 10 o un fragmento de la misma.

El antagonista de fórmula (I) es específico para el sitio de unión 1 (sitio de unión de neurotensina de alta afinidad) de la sortilina.

En otro aspecto, el antagonista tiene la estructura general de fórmula (II):



en donde Z es un donador o aceptor de enlace de hidrógeno, seleccionado del grupo que consiste en carbonilo, hidroxilo, amino, imino, amida, sulfhidrilo, cloro, fluoro, y en donde

R<sub>5</sub> se selecciona del grupo que consiste en H, CH<sub>3</sub>, y un conector L2, y en donde

R<sub>6</sub> se selecciona del grupo que consiste en H, -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> y -OCH<sub>3</sub>, y en donde

R<sub>7</sub> se selecciona del grupo que consiste en cadenas laterales de glutamato, glutamina, lisina, arginina, histidina, tirosina, metionina, cisteína, grupos alifáticos C4-6, y en donde

R<sub>8</sub> se selecciona del grupo que consiste en cadenas laterales de tirosina, histidina, serina, treonina, aspartato, asparagina, cisteína, fenilalanina, yodo-tirosina y -CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, y en donde

R<sub>9</sub> se selecciona del grupo que consiste en cadena lateral de lisina, arginina, glutamina, grupos C3-8 alifáticos y heteroalifáticos, grupos carbocíclicos y heterocíclicos que comprenden 5 o 6 miembros en el anillo, y en donde

R<sub>10</sub> se selecciona del grupo que consiste en un piroglutamato, policarbohidratos y un polipéptido de longitud mayor o igual que 10, y en donde

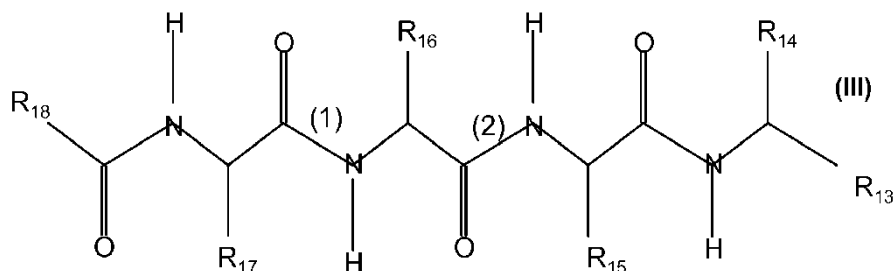
R<sub>11</sub> y R<sub>12</sub> individualmente se seleccionan del grupo que consiste en H, alquilo lineal o ramificado C1-12, alqueno lineal o ramificado, alquino lineal o ramificado, fenilo, bencilo, halogenoalcano, cloroalcano, bromoalcano, yodoalcano, halogenoformilo, hidroxilo, carbonilo, aldehído, éster de carbonato, carboxilato, carboxilo, éter, éster, hidroperoxi, peroxi, carboxamida, amina primaria, amina secundaria, amina terciaria, amonio, cetimina primaria, cetimina secundaria, aldimina primaria, aldimina secundaria, imida, azida, azo (diimida), cianato, isocianuro,

isotiocianato, nitrato, nitrilo, nitrosooxi, nitro, nitroso, piridilo, fosfino, fosfato, fosfono, sulfonilo, sulfinilo, sulfhidrilo (SH), y en donde

los enlaces covalentes (1) y (2) se seleccionan individualmente del grupo que consiste en enlaces sencillos y enlaces dobles.

- 5 El antagonista de fórmula (II) es específico para el sitio de unión 2 (sitio de unión de neurotensina de baja afinidad) de la sortilina.

En otro aspecto, el antagonista tiene la estructura general de fórmula (III):



- 10 en donde R<sub>13</sub> se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C1-12, alquenilo, alquinilo y un conector L3, y en donde

R<sub>14</sub>, R<sub>15</sub>, R<sub>17</sub>, R<sub>19</sub>, R<sub>20</sub> se seleccionan individualmente del grupo que consiste en H, alquilo C1-12, alquenilo y alquinilo, y en donde

R<sub>16</sub> se selecciona del grupo que consiste en cadenas laterales de fenilalanina, leucina, isoleucina, valina, metionina, histidina, cisteína, lisina y alifática C3-7, y en donde

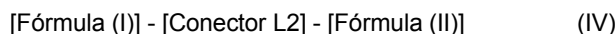
- 15 R<sub>18</sub> se selecciona del grupo que consiste en H, -CH<sub>3</sub> y -CH<sub>2</sub>OH, y en donde

los enlaces covalentes (1) y (2) se seleccionan individualmente del grupo que consiste en enlaces sencillos y enlaces dobles.

El antagonista de fórmula (I) o (II), en donde el conector L2 se selecciona del grupo que consiste en una cadena principal de péptido de 5 a 6 restos, alquilo C15-20, alquenilo C15-20 y alquinilo C15-20.

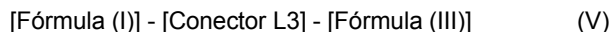
- 20 El antagonista de fórmula (III) es específico para el sitio de unión 3 (sitio de unión de proneurotrofina) de la sortilina.

El antagonista de fórmula (I) puede estar conectado al antagonista de fórmula (II) por un conector L2, formando así la fórmula general (IV):



- 25 El conector L3 se puede seleccionar del grupo que consiste en una cadena principal de péptido de 12 a 20 restos, alquilo C30-60, alquenilo C30-60 y alquinilo C30-60.

El antagonista de fórmula (I) está conectado al antagonista de fórmula (III) por el conector L3, formando así la fórmula general (V):



- 30 El antagonista como se ha definido antes en la presente memoria en donde dicho antagonista se selecciona del grupo que consiste en RRPYI(chg), yodoYIL, QIL, YCL, dYIL, YHL, RRPYI(acc), RRPYI(nMe)L, YIL representado en la figura 10.

El antagonista como se ha definido antes en la presente memoria en donde dicho antagonista es RRPYI(chg) representado en la figura 10.

- 35 El antagonista como se ha definido antes en la presente memoria en donde dicho antagonista es yodoYIL representado en la figura 10.

El antagonista como se ha definido antes en la presente memoria en donde dicho antagonista es QIL representado en la figura 10.

El antagonista como se ha definido antes en la presente memoria en donde dicho antagonista es YCL representado en la figura 10.

El antagonista como se ha definido antes en la presente memoria en donde dicho antagonista es dYIL representado en la figura 10.

El antagonista como se ha definido antes en la presente memoria en donde dicho antagonista es YHL representado en la figura 10.

- 5 El antagonista como se ha definido antes en la presente memoria en donde dicho antagonista es RRPYI(acc) representado en la figura 10.

El antagonista como se ha definido antes en la presente memoria en donde dicho antagonista es RRPYI(nMe)L representado en la figura 10.

- 10 El antagonista como se ha definido antes en la presente memoria en donde dicho antagonista es YIL representado en la figura 10.

En una realización de la presente invención, el animal es un ser humano (Homo Sapiens Sapiens).

En una realización de la presente invención, el animal se selecciona del grupo que consiste en ratón, rata, conejo, animal canino y perro.

Indicaciones

- 15 En una realización de la presente invención, la concentración plasmática de lípidos anómala es hiperlipoproteinemia.

En una realización de la presente invención, la hiperlipoproteinemia se selecciona del grupo que consiste en hiperlipoproteinemia de tipos I, IIa, IIb, III, IV o V.

En una realización adicional de la presente invención, la hiperlipoproteinemia de tipo I se selecciona del grupo que consiste en síndrome de Buerger-Gruetz, hiperlipoproteinemia primaria o hiperquilomicronemia familiar.

- 20 En una realización adicional de la presente invención, la hiperlipoproteinemia de tipo IIa se selecciona del grupo que consiste en hipercolesterolemia poligénica o hipercolesterolemia familiar.

En una realización adicional de la presente invención, la hiperlipoproteinemia de tipo IIb es hiperlipidemia combinada.

En una realización adicional de la presente invención, la hiperlipoproteinemia de tipo III es disbetalipoproteinemia.

- 25 En una realización adicional de la presente invención, la hiperlipoproteinemia de tipo IV es hiperlipemia endógena.

En una realización adicional de la presente invención, la hiperlipoproteinemia de tipo V es hipertrigliceridemia familiar.

- 30 En una realización adicional de la presente invención, la hiperlipoproteinemia ocasiona una enfermedad o trastorno seleccionado del grupo que consiste en aneurisma, angina de pecho, aterosclerosis, accidente cerebrovascular (apoplejía), enfermedad cerebrovascular, cardiopatía congénita, insuficiencia cardíaca congestiva, enfermedad arterial coronaria, cardiomiopatía dilatada, disfunción diastólica, endocarditis, hipercolesterolemia, hipertensión, hiperlipidemia, cardiomiopatía hipertrófica, prolapso de válvula mitral, infarto de miocardio (ataque cardíaco) y tromboembolia venosa, en un animal,

- 35 En una realización adicional de la presente descripción, el receptor con dominio Vps10p comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 60% con la SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4 o SEQ ID NO. 5.

En una realización adicional de la presente descripción, el receptor con dominio Vps10p comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 65% con la SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4 o SEQ ID NO. 5.

- 40 En una realización adicional de la presente descripción, el receptor con dominio Vps10p comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 70% con la SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4 o SEQ ID NO. 5.

- 45 En una realización adicional de la presente descripción, el receptor con dominio Vps10p comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 75% con la SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4 o SEQ ID NO. 5.

En una realización adicional de la presente descripción, el receptor con dominio Vps10p comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 80% con la SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4 o SEQ ID NO. 5.

- En una realización adicional de la presente descripción, el receptor con dominio Vps10p comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 85% con la SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4 o SEQ ID NO. 5.
- 5 En una realización adicional de la presente descripción, el receptor con dominio Vps10p comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 90% con la SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4 o SEQ ID NO. 5.
- En una realización adicional de la presente descripción, el receptor con dominio Vps10p comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 91% con la SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4 o SEQ ID NO. 5.
- 10 En una realización adicional de la presente descripción, el receptor con dominio Vps10p comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 92% con la SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4 o SEQ ID NO. 5.
- En una realización adicional de la presente descripción, el receptor con dominio Vps10p comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 93% con la SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4 o SEQ ID NO. 5.
- 15 En una realización adicional de la presente descripción, el receptor con dominio Vps10p comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 94% con la SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4 o SEQ ID NO. 5.
- En una realización adicional de la presente descripción, el receptor con dominio Vps10p comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 95% con la SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4 o SEQ ID NO. 5.
- 20 En una realización adicional de la presente descripción, el receptor con dominio Vps10p comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 96% con la SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4 o SEQ ID NO. 5.
- En una realización adicional de la presente descripción, el receptor con dominio Vps10p comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 97% con la SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4 o SEQ ID NO. 5.
- 25 En una realización adicional de la presente descripción, el receptor con dominio Vps10p comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 98% con la SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4 o SEQ ID NO. 5.
- En una realización adicional de la presente descripción, el receptor con dominio Vps10p comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 99% con la SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4 o SEQ ID NO. 5.
- 30 En una realización adicional de la presente descripción, el receptor con dominio Vps10p comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 99,5% con la SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4 o SEQ ID NO. 5.
- En una realización adicional de la presente descripción, el receptor con dominio Vps10p comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 99,9% con la SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4 o SEQ ID NO. 5.
- 40 En una realización de la presente descripción el al menos un antagonista como se define en la presente memoria, es capaz de inhibir la unión de un agonista seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO. 6 (proNGF), SEQ ID NO. 7 (proBDNF), SEQ ID NO. 8 (proNT3), SEQ ID NO. 9 (pro-NT4/5), SEQ ID NO. 14 (ApoE) o SEQ ID NO. 15 (LpL) o un fragmento o variante de los mismos, a dicho receptor con dominio Vps10p.
- En otra realización de la presente descripción, el al menos un antagonista como se ha definido antes en la presente memoria se une a al menos un resto de aminoácido del sitio de unión que comprende los restos de aminoácidos R325, S316, Y351, I353, K260, I327, F314, F350 a M363, S305, F306, T398 a G400, I303-G309, Q349-A356, Y395 y T402 de la SEQ ID NO. 1 (sortilina) o uno de sus fragmentos o variantes, en donde el fragmento se selecciona, pero no se limita al grupo que comprende sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura y la variante se selecciona de, pero no se limita al grupo que comprende una secuencia que tiene al menos 60% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO. 1, o cualquiera de los fragmentos de sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura y una secuencia que tiene al menos 65% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO. 1, o cualquiera de los fragmentos de sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura y una secuencia que tiene al menos 70% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO. 1, o cualquiera de los fragmentos de sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura y una secuencia que tiene al menos 75% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO. 1, o cualquiera de los fragmentos de sortilina
- 50





fragmentos o variantes en donde el fragmento se selecciona de, pero no se limita al grupo que comprende sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura y la variante se selecciona de, pero no se limita al grupo que comprende una secuencia que tiene al menos 60% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO. 1, o cualquiera de los fragmentos de sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura y una secuencia que tiene al menos 65% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO. 1, o cualquiera de los fragmentos de sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura y una secuencia que tiene al menos 70% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO. 1, o cualquiera de los fragmentos de sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura y una secuencia que tiene al menos 75% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO. 1, o cualquiera de los fragmentos de sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura y una secuencia que tiene al menos 80% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO. 1, o cualquiera de los fragmentos de sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura una secuencia que tiene al menos 85% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO. 1, o cualquiera de los fragmentos de sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura una secuencia que tiene al menos 90% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO. 1, o cualquiera de los fragmentos de sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura una secuencia que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO. 1, o cualquiera de los fragmentos de sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura y una secuencia que tiene al menos 99% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO. 1, o cualquiera de los fragmentos de sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura.

En una realización muy preferida de la presente descripción, el al menos un antagonista como se ha definido antes en la presente memoria se une a al menos un resto de aminoácido del sitio de unión que comprende los restos de aminoácidos E444, T451, Y466, I498 y V500 de la SEQ ID NO. 1 (sortilina) o uno de sus fragmentos o variantes en donde el fragmento se selecciona de, pero no se limita al grupo que comprende sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura y la variante se selecciona de, pero no se limita al grupo que comprende una secuencia que tiene al menos 60% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO. 1, o cualquiera de los fragmentos de sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura y una secuencia que tiene al menos 65% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO. 1, o cualquiera de los fragmentos de sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura y una secuencia que tiene al menos 70% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO. 1, o cualquiera de los fragmentos de sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura y una secuencia que tiene al menos 75% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO. 1, o cualquiera de los fragmentos de sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura y una secuencia que tiene al menos 80% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO. 1, o cualquiera de los fragmentos de sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura y una secuencia que tiene al menos 85% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO. 1, o cualquiera de los fragmentos de sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura una secuencia que tiene al menos 90% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO. 1, o cualquiera de los fragmentos de sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura una secuencia que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO. 1, o cualquiera de los fragmentos de sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura y una secuencia que tiene al menos 99% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO. 1, o cualquiera de los fragmentos de sortilina soluble, pro-sortilina y sortilina madura.

El antagonista, que en este sentido es sinónimo de un inhibidor del receptor con dominio Vps10p, se selecciona, pero no está limitado al grupo que comprende proteínas, péptidos, polipéptidos, anticuerpos, ARN de sentido contrario, ADN de sentido contrario, moléculas orgánicas pequeñas y ARNip.

#### Anticuerpos contra el receptor con dominio Vps10p

Un anticuerpo se une fuertemente a una molécula diana particular, inactivándola así directamente o marcándola para su destrucción. El anticuerpo reconoce su diana (antígeno) con una notable especificidad y fuerza que viene dada por la suma de muchas fuerzas químicas, que incluyen enlaces de hidrógeno, fuerzas hidrófobas y de van der Waals, así como interacciones iónicas. En general, cuanto más compleja químicamente es la diana, más inmunógena será. El determinante antigénico puede abarcar tramos de aminoácidos lineales cortos o un módulo de proteína tridimensional más complicado.

Conceptualmente, los anticuerpos dirigidos contra un receptor diana pueden inhibir la unión del ligando de dos formas: competitiva o alostérica. La inhibición competitiva implica la unión directa del anticuerpo a o cerca del sitio de unión del ligando en el receptor, desplazando de esta forma al ligando de su receptor, o la inhibición estérica del acercamiento del ligando al sitio de unión del ligando. La inhibición alostérica implica la unión del anticuerpo a un sitio en el polipéptido receptor que es distinto del epítipo de unión del ligando. Sin embargo, la unión a este sitio inducirá un cambio conformacional en la estructura general del receptor que hace más difícil o incluso imposible para el ligando unirse a su sitio de reconocimiento cognado.

Los autores de esta solicitud han producido anticuerpos contra varias partes de los receptores con dominio Vps10p. La presente invención se dirige a anticuerpos contra la característica unificadora de esta familia de receptores, el dominio Vps10p. El alineamiento de secuencias más adelante de dominios Vps10p demuestra la conservación dentro de esta familia de receptores.

Tabla 2: Anticuerpos contra receptores con dominio Vps10p

ES 2 680 222 T3

| Receptor  | Nombre                   | Antígeno                             | Especie | Western | IH/IC | Ref.                                                                          |
|-----------|--------------------------|--------------------------------------|---------|---------|-------|-------------------------------------------------------------------------------|
| SorLA     | SORLA cabra              | Dominio extracelular                 | cabra   | X       | X     | Schmidt et. al.,<br><i>J. Biol. Chem.</i> 282:32956-67,<br>2007               |
|           | Hale SORLA               | Dominio citoplasmático               | conejo  | X       |       |                                                                               |
|           | SORLA LA                 | Repetición de tipo<br>complemento    | conejo  | X       |       |                                                                               |
|           | Sol<br>SORLA             | Dominio extracelular                 | conejo  | X       | X     | Andersen et al., <i>PNAS</i><br>103:13461-6, 2005                             |
|           | SORLA cola               | Dominio citoplasmático               | conejo  | X       |       |                                                                               |
|           | SORLA VPS                | Dominio Vps10p                       | conejo  | X       |       |                                                                               |
|           | n° 606870                | Sec. de péptido en<br>dominio Vps10p | conejo  | X       |       |                                                                               |
|           | n° 642739                | C-terminal                           | conejo  | X       |       |                                                                               |
|           | n° 643739                | Cola citoplasmática                  | conejo  | X       |       |                                                                               |
|           | 20C11                    | Dominio extracelular                 | ratón   | X       | X     |                                                                               |
|           | AG4                      | Dominio extracelular                 | ratón   | X       |       |                                                                               |
| Sortilina | n° 5264                  | Dominio extracelular                 | conejo  | X       | X     | Munck Petersen et al., <i>EMBO</i><br><i>J.</i> 18 :595-604, 1999             |
|           | n° 5448                  | Dominio citoplasmático               | conejo  | X       | X     | Jansen et al., <i>Nature Neurosci.</i><br>10 :1449-1457, 2007                 |
|           | n° 5287                  | Dominio citoplasmático               | conejo  | X       |       |                                                                               |
|           | CP 96 334<br>SR 96 204   | Propéptido                           | conejo  | X       |       | Munck Petersen et al., <i>EMBO</i><br><i>J.</i> 18 :595-604, 1999             |
|           | n° 5438                  | Vps10p                               | conejo  | X       |       |                                                                               |
|           | Sortilina<br>cabra/Laika | Dominio extracelular                 | cabra   | X       |       |                                                                               |
|           | F9                       | Dominio extracelular                 | ratón   | X       | X     |                                                                               |
|           | F11                      | Dominio extracelular                 | ratón   | X       | X     |                                                                               |
|           | AF2934                   | Dominio extracelular                 | cabra   | X       | X     | R&D Systems, Jansen et al.,<br><i>Nature Neurosci.</i> 10:1449-<br>1457, 2007 |
|           | AF3154                   | Dominio extracelular                 | cabra   | X       | X     | R&D Systems; Jansen et al,<br><i>Nature Neurosci.</i> 10:1449-<br>1457, 2007  |
|           | anti-NTR3                | Dominio extracelular                 | ratón   | X       | X     | BD Transduction Laboratories,                                                 |
|           | ANT-009                  | Dominio extracelular                 | ratón   | X       | X     | Alomone Labs;<br>Nykjaer et al., <i>Nature</i> 427 :8<br>43-848, 2004         |
| SorCS1    | AF3457                   | Dominio extracelular                 | cabra   | X       | X     | BD Transduction Laboratories                                                  |

| Receptor | Nombre       | Antígeno                    | Especie | Western | IH/IC | Ref.                                                            |
|----------|--------------|-----------------------------|---------|---------|-------|-----------------------------------------------------------------|
|          | SorCS1 cabra | Dominio extracelular        | cabra   | X       |       |                                                                 |
|          | L-SorCS1     | Dominio extracelular        | conejo  | X       | X     | Hermey et al., <i>J. Biol. Chem.</i> 279:50221- 50229, 2003     |
|          | Leu-SorCS1   | Dominio rico en leucina     | conejo  | X       | X     | Hermey et al., <i>J. Biol. Chem.</i> 279:50221-50229, 2003      |
|          | n° 5466      | Dominio extracelular        | conejo  | X       | X     |                                                                 |
|          | 1D           | Dominio extracelular        | ratón   | X       |       |                                                                 |
|          | 4H           | Dominio extracelular        | ratón   | X       |       |                                                                 |
|          | 6B           | Dominio extracelular        | ratón   | X       |       |                                                                 |
|          | 4A           | Dominio extracelular        | ratón   | X       |       |                                                                 |
| SorCS2   | AF4237       | Dominio extracelular        | oveja   | X       |       | BD Transduction Laboratories                                    |
|          | SorCS2 cabra | Dominio extracelular        | cabra   | X       | X     |                                                                 |
|          | n° 5422      | Dominio extracelular        | conejo  | X       | X     | Hermey et al., <i>Biochem. J.</i> , 395:285-93, 2006            |
|          | n° 5431      | 28 aminoácidos C-terminales | conejo  | X       | X     |                                                                 |
|          | SorCS2-prp   | Propéptido                  | conejo  | X       |       | Schousboe Sjoegaard, Dissertation, Aarhus University, 2005      |
|          | M1           | Dominio extracelular        | ratón   |         | X     | Roland Hoist, Master of Science Thesis, Aarhus University, 2006 |
|          | M3           | Dominio extracelular        | ratón   |         | X     | Roland Hoist, Master of Science Thesis, Aarhus University, 2006 |
|          | M4           | Dominio extracelular        | ratón   |         | X     | Roland Hoist, Master of Science Thesis, Aarhus University, 2006 |
|          | M7           | Dominio extracelular        | ratón   |         | X     | Roland Hoist, Master of Science Thesis, Aarhus University, 2006 |
|          | M9           | Dominio extracelular        | ratón   |         | X     | Roland Hoist, Master of Science Thesis, Aarhus University, 2006 |
|          | M10          | Dominio extracelular        | ratón   |         | X     | Roland Hoist, Master of Science Thesis, Aarhus University, 2006 |
|          | M13          | Dominio extracelular        | ratón   | X       |       | Roland Hoist, Master of Science Thesis, Aarhus University, 2006 |
|          | M15          | Dominio extracelular        | ratón   |         | X     | Roland Hoist, Master of Science Thesis, Aarhus University, 2006 |

| Receptor | Nombre                  | Antígeno             | Especie | Western | IH/IC | Ref.                                                            |
|----------|-------------------------|----------------------|---------|---------|-------|-----------------------------------------------------------------|
|          | M18                     | Dominio extracelular | ratón   | X       | X     | Roland Hoist, Master of Science Thesis, Aarhus University, 2006 |
|          | M19                     | Dominio extracelular | ratón   | X       | X     | Roland Hoist, Master of Science Thesis, Aarhus University, 2006 |
|          | S21                     | Dominio extracelular | ratón   | X       |       | Roland Hoist, Master of Science Thesis, Aarhus University, 2006 |
|          | SorCS2-GST-73aa         | Dominio extracelular | conejo  | X       |       |                                                                 |
|          | SorCS2-GST-100aa        | Dominio extracelular | conejo  | X       |       |                                                                 |
|          | SorCS2-GST-172aa        | Dominio extracelular | conejo  | X       |       |                                                                 |
| SorCS3   | SorCS3-N                | Dominio extracelular | conejo  | X       |       |                                                                 |
|          | SorCS3-C                | 15 aa C-terminales   | conejo  | X       |       |                                                                 |
|          | Sort3 N-Term<br>n° 5389 | Dominio N-terminal   | conejo  | X       | X     | Westergaard et al., <i>FEBS Lett.</i> 579:1172-6, 2005          |
|          | n° 5432                 | Dominio extracelular | conejo  | X       | X     |                                                                 |
|          | MAB3067                 | Dominio extracelular | ratón   | X       |       | BD Transduction Laboratories                                    |
|          | MAB30671                | Dominio extracelular | ratón   | X       |       | BD Transduction Laboratories                                    |
|          | AF3326                  | Dominio extracelular | cabra   | X       |       | BD Transduction Laboratories                                    |
|          | SorCS3                  | Dominio extracelular | cabra   | X       |       |                                                                 |

#### Uso genérico de un anticuerpo para inhibir la unión de un ligando

- Un anticuerpo se une fuertemente a una molécula diana particular, inactivándola así directamente o marcándola para su destrucción. El anticuerpo reconoce su diana (antígeno) con una notable especificidad y fuerza que viene dada por la suma de muchas fuerzas químicas, que incluyen enlaces de hidrógeno, fuerzas hidrófobas y de van der Waals, así como interacciones iónicas. En general, cuanto más compleja químicamente es la diana, más inmunógena será. El determinante antigénico puede abarcar tramos de aminoácidos lineales cortos o un módulo de proteína tridimensional más complicado.

#### Procedimiento para hacer anticuerpos

- Los anticuerpos policlonales y monoclonales dirigidos contra un antígeno específico, o epítipo de un antígeno, se pueden producir de acuerdo con procedimientos convencionales (véase, por ejemplo, *Antibodies - A laboratory Manual* de Ed Harlow y David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory 1998, ISBN 0-87969-314-2). El procedimiento para la posterior generación de anticuerpos humanizados o fragmentos de los mismos también se ha descrito (p. ej., A. M. Scott et al., *Cancer Research* 60:3254-3261, 2000; A. Nissim y Y. Chernajovsky, *Handb. Exp. Pharmacol.* 181:3-18, 2008; A. Mountain y J. R. Adair, *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.* 10:1-142, 1992).

#### Expectativas generales de éxito en la preparación de anticuerpos

- Se pueden generar anticuerpos contra cualquier motivo de péptido que se elija usando oligopéptidos sintéticos cortos que abarcan el epítipo diana deseado. Por lo tanto, se garantiza que se pueden generar anticuerpos contra sitios de unión del ligando en receptores. El que la especie de anticuerpo individual tenga o no el potencial para inhibir la unión del ligando depende simplemente del hecho de que la afinidad de la inmunoglobulina por el receptor supere la del ligando. Al final es una cuestión de cribar el potencial inhibidor de una serie de anticuerpos individuales para encontrar uno con las propiedades deseadas.

Los ensayos de cribado para anticuerpos inhibidores son comúnmente conocidos y típicamente implican un ensayo de inmunoabsorción con enzimas ligadas (ELISA). En detalle, el receptor recombinante o un fragmento que abarca su motivo de unión de ligando, se inmovilizan en pocillos por duplicado de placas de microvaloración. Posteriormente, los pocillos se incuban con una solución que contiene el ligando. La unión del ligando al receptor inmovilizado se confirma usando un anticuerpo que reconoce el ligando y que está acoplado con una reacción de color con colorante. La unión del ligando al receptor se ensaya en presencia de diferentes anticuerpos para identificar las especies de inmunoglobulina que bloquean la unión del ligando al receptor, y por lo tanto previenen la reacción de color en el respectivo pocillo de la placa de microvaloración.

Uso clínico satisfactorio de anticuerpos

10 Hay una serie de anticuerpos terapéuticos que se usan en clínica. Los ejemplos incluyen Rituxan de Genentech, un anticuerpo dirigido contra el receptor de CD20 (usado en la artritis reumatoide), Remicade de Johnson & Johnson, un anticuerpo dirigido contra el receptor del TNF alfa (en psoriasis), Avastin de Roche, un anticuerpo anti-VEGF usado para el tratamiento del cáncer colorrectal y pulmonar, así como Herceptin, un anticuerpo contra el receptor HRE2 usado en la terapia del cáncer de mama.

15 La evaluación de la unión a un receptor es un trabajo rutinario para el experto en el campo de la biotecnología. En relación con esto, debe mencionarse que las proneurofinas, así como la familia de receptores con dominio Vps10p, eran conocidos en la fecha de prioridad de esta invención, y se han mencionado en la técnica anterior ensayos de unión que implican, por ejemplo, proneurotrofinas, por ejemplo en el artículo de Lee et al. (2001) *Science* 294:1945-1948.

20 Por consiguiente, el agonista de la presente invención es un anticuerpo capaz de unirse a un receptor de sortilina inhibiendo así la actividad de dicho receptor sortilina.

En una realización adicional, el anticuerpo se dirige contra una parte extracelular del receptor con dominio Vps10p.

En una realización adicional, el anticuerpo se dirige contra una parte intracelular del receptor con dominio Vps10p.

25 En una realización adicional, el anticuerpo se dirige contra una parte transmembrana del receptor con dominio Vps10p.

En una realización de la presente invención, el anticuerpo como se ha definido antes en la presente memoria, se selecciona del grupo que consiste en: anticuerpos policlonales, anticuerpos monoclonales, anticuerpos humanizados, anticuerpos de una cadena, anticuerpos recombinantes.

30 Además, la descripción se refiere al uso de al menos un antagonista capaz de unirse a al menos un resto de aminoácido de un agonista del receptor con dominio Vps10p seleccionado del grupo que consiste en la SEQ ID NO. 6, 7, 8, 9, 10, 14 o 15, o uno de sus fragmentos o variantes, en la fabricación de un medicamento, para el tratamiento y/o prevención de concentraciones plasmáticas de lípidos anómalas en un animal.

35 La presente descripción describe además un inmunoconjugado que comprende el anticuerpo como se ha definido antes en la presente memoria y un conjugado seleccionado del grupo que consiste en: un agente citotóxico, tal como un agente quimioterapéutico, una toxina, o un isótopo radiactivo; un miembro de un par de unión específico, tal como avidina, o estreptavidina o un antígeno.

Métodos para cribar antagonistas/inhibidores de receptores con dominio Vps10p

40 La presente descripción se refiere a métodos in vitro e in vivo para identificar un antagonista de un receptor con dominio Vps10p, siendo capaz dicho antagonista de unirse a dicho receptor con dominio Vps10p y así inhibir la unión de un agonista endógeno a dicho receptor, previniendo/inhibiendo por consiguiente una respuesta fisiológica asociada con la regulación de concentraciones de lípidos en el plasma sanguíneo.

Por consiguiente, en un aspecto, la descripción se refiere a un método in vitro para cribar un antagonista capaz de unirse a un receptor con dominio Vps10p, que comprende las etapas de:

a) proporcionar un receptor con dominio Vps10p, y

45 b) proporcionar un agonista,

c) proporcionar una biblioteca de potenciales antagonistas, y

d) proporcionar un ensayo para medir la unión de un agonista a un receptor con dominio Vps10p, y

e) añadir la biblioteca de potenciales antagonistas que se van a ensayar al ensayo, y

f) determinar la cantidad de agonista unido al receptor con dominio Vps10p, y

50 g) comparar la cantidad determinada en la etapa f) con una cantidad medida en ausencia del antagonista que se va

a ensayar,

h) en donde la diferencia en las dos cantidades identifica un antagonista que altera la unión del agonista al receptor con dominio Vps10p.

5 En otro aspecto más, la presente descripción se refiere a un método para determinar el grado de inhibición de un antagonista en la actividad de un receptor con dominio Vps10p en un cultivo celular que expresa dicho receptor, en donde dicho receptor con dominio Vps10p comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 60% con la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4 o SEQ ID NO. 5, comprendiendo dicho método las etapas de:

a) proporcionar un cultivo celular que expresa un receptor con dominio Vps10p, y

10 b) proporcionar un agonista del receptor con dominio Vps10p, y

c) proporcionar una biblioteca de potenciales antagonistas, y

d) proporcionar un ensayo para determinar la unión a, internalización de y señalización a través de, un receptor con dominio Vps10p, comprendiendo dicho ensayo,

15 e) añadir la biblioteca de potenciales antagonistas que se van a ensayar c) al cultivo celular a), en presencia del agonista b), y

f) determinar

i) la cantidad de antagonista unido al receptor con dominio Vps10p, y/o

ii) la cantidad de antagonista internalizado por el receptor con dominio Vps10p, y/o

iii) el grado de señalización a través del receptor con dominio Vps10p, y

20 g) comparar la cantidad determinada en la etapa f) con una cantidad medida en ausencia del antagonista que se va a ensayar,

h) en donde la diferencia en las dos cantidades identifica un antagonista

i) capaz de unirse a un receptor con dominio Vps10p, y/o

ii) capaz de inhibir la señalización a través de un receptor con dominio Vps10p, y/o

25 iii) capaz de inhibir la internalización de un agonista de dicho receptor con dominio Vps10p.

En un aspecto adicional, la presente descripción se refiere a un método para determinar el grado de inhibición de un antagonista en la actividad de un receptor con dominio Vps10p en un cultivo celular que expresa dicho receptor y con un cultivo celular que carece de expresión de dicho receptor, comprendiendo el método las etapas de:

a) proporcionar un cultivo celular que expresa un receptor con dominio Vps10p, y

30 b) proporcionar un cultivo celular que no expresa un receptor con dominio Vps10p, y

c) opcionalmente proporcionar un cultivo celular que expresa en exceso un receptor con dominio Vps10p

d) proporcionar un agonista del receptor con dominio Vps10p, y

e) proporcionar una biblioteca de potenciales antagonistas, y

35 f) proporcionar un primer ensayo que comprende a) y un segundo ensayo que comprende b) y opcionalmente un tercer ensayo que comprende c), y

g) añadir la biblioteca de potenciales antagonistas que se van a ensayar a los tres ensayos, y

h) determinar

i) la cantidad de antagonista unido al receptor con dominio Vps10p, y/o

ii) la cantidad de antagonista internalizado por el receptor con dominio Vps10p, y/o

40 iii) el grado de señalización a través del receptor con dominio Vps10p, y

i) comparar la cantidad de antagonista determinada en la etapa g) usando a) con la cantidad determinada en g) usando b) y la cantidad determinada en g) usando c),

- j) en donde la diferencia en las cantidades identifica un antagonista
- i) capaz de unirse a un receptor con dominio Vps10p, y/o
  - ii) capaz de inhibir la señalización a través de un receptor con dominio Vps10p, y/o
  - iii) capaz de inhibir la internalización de un agonista de dicho receptor con dominio Vps10p.
- 5 En una realización adicional, el agonista como se ha definido antes en la presente memoria, se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO. 6 (proNGF), SEQ ID NO. 7 (proBDNF), SEQ ID NO. 8 (proNT3), SEQ ID NO. 9 (pro-NT4/5), SEQ ID NO. 14 (ApoE) o SEQ ID NO. 15 (LpL), o un fragmento o variante de los mismos.
- En un aspecto adicional, la presente descripción se refiere a un método para determinar el grado de inhibición de un antagonista en la actividad de un receptor con dominio Vps10p en un mamífero que expresa dicho receptor, comprendiendo dicho método las etapas de:
- 10 a) administrar dicho antagonista a un mamífero que expresa el receptor de forma natural,
- b) determinar
- i) la cantidad de antagonista unido al receptor con dominio Vps10p, y/o
  - ii) la cantidad de antagonista internalizado por el receptor con dominio Vps10p, y/o
- 15 iii) el grado de señalización a través del receptor con dominio Vps10p, y
- c) comparar la medición de la etapa b) con una medición obtenida en ausencia del compuesto que se va a ensayar,
- d) en donde la diferencia en las dos cantidades identifica el efecto de dicho antagonista en dicho mamífero que expresa el receptor de forma natural.
- En otro aspecto más, la presente descripción se refiere a un método para determinar el grado de inhibición de un antagonista en la actividad de un receptor con dominio Vps10p en un mamífero que expresa dicho receptor con un segundo mamífero que carece de expresión de dicho receptor y un tercer mamífero que expresa en exceso dicho receptor, comprendiendo dicho método las etapas de:
- 20 a) proporcionar un mamífero que expresa un receptor con dominio Vps10p, y
- b) proporcionar un mamífero que no expresa un receptor con dominio Vps10p, y
- 25 c) proporcionar un mamífero que expresa en exceso un receptor con dominio Vps10p, y
- d) proporcionar un agonista del receptor con dominio Vps10p, y
- e) proporcionar una biblioteca de potenciales antagonistas, y
- f) administrar dicha biblioteca de antagonistas a dicho mamífero de a), b) y c) respectivamente, y
- g) determinar
- 30 i) la cantidad de antagonista unido al receptor con dominio Vps10p, y/o
- ii) la cantidad de antagonista internalizado por el receptor con dominio Vps10p, y/o
- iii) el grado de señalización a través del receptor con dominio Vps10p, en cada uno de los mamíferos en a), b) y c), y
- h) comparar la cantidad de antagonista determinada en la etapa g) usando a) con la cantidad determinada en g) usando b) y la cantidad determinada en g) usando c),
- 35 i) en donde la diferencia en las cantidades identifica un antagonista
- i) capaz de unirse a un receptor con dominio Vps10p, y/o
  - ii) capaz de inhibir la señalización a través de un receptor con dominio Vps10p, y/o
  - iii) capaz de inhibir la internalización de un agonista de dicho receptor con dominio Vps10p.
- 40 Composición farmacéutica

En un aspecto adicional, la presente descripción se refiere a una composición farmacéutica que comprende el antagonista de la reivindicación 1, dicho antagonista seleccionado del grupo que consiste en compuestos orgánicos pequeños, oligopéptidos, proteínas y anticuerpos monoclonales o policlonales.

5 En una realización adicional, la composición farmacéutica como se ha definido antes en la presente memoria comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En una realización adicional, la composición farmacéutica como se ha definido antes en la presente memoria comprende un segundo principio activo seleccionado de, pero no limitado al grupo que consiste en analgésicos, opioides, antagonistas adrenérgicos, antihipertensivos y compuestos capaces de modular las concentraciones plasmáticas de lípidos.

10 En una realización importante, el compuesto capaz de modular las concentraciones plasmáticas de lípidos es una estatina seleccionada del grupo que consiste en atorvastatina, cerivastatina, fluvastatina, lovastatina, mevastatina, pitavastatina, pravastatina, rosuvastatina, simvastatina, combinación de simvastatina/ezetimiba, combinación de lovastatina/niacina y combinación de atorvastatina/besilato de amlodipino Caduet.

15 En una realización adicional, el pH de la composición farmacéutica definida antes en la presente memoria está entre pH 5 y pH 9.

En un aspecto importante, la presente descripción se refiere al uso de la composición farmacéutica descrita antes en la presente memoria para la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una enfermedad o trastorno asociado con concentraciones plasmáticas de lípidos anómalas.

#### Método de tratamiento

20 En un aspecto, la presente invención se refiere a un método de tratamiento de un estado patológico del sistema cardiovascular asociado con concentraciones plasmáticas de lípidos anómalas en un sujeto que comprende administrar a un individuo que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica definida por las reivindicaciones.

25 En una realización de la presente invención, la concentración plasmática de lípidos anómala como se ha definido antes en la presente memoria son concentraciones anómalas de colesterol LDL.

En una realización adicional de la presente invención, la concentración plasmática de lípidos anómala como se ha definido antes en la presente memoria son concentraciones anómalas de triglicéridos.

#### Kit de partes

En un aspecto, la presente descripción se refiere a un kit en partes que comprende:

- 30 - una composición farmacéutica como se ha definido antes en la presente memoria,  
- un instrumento médico u otro medio para administrar el medicamento,  
- instrucciones sobre cómo usar el kit en partes.

En una realización, el kit en partes como se ha definido antes en la presente memoria comprende un segundo principio activo.

35 En un aspecto adicional, la presente descripción se refiere al uso de al menos un antagonista en donde dicho antagonista es capaz de inhibir la expresión de un receptor con dominio Vps10p en un animal.

#### Formas de administración

40 Las principales vías de administración de fármacos en el método de tratamiento son la intravenosa, oral y tópica. También están contemplados otros métodos de administración de fármacos, tales como inyección subcutánea o por inhalación, que son eficaces para suministrar el fármaco a un sitio objetivo o para introducir el fármaco en el torrente sanguíneo.

45 La membrana mucosa a la que se administra la preparación farmacéutica usada en la presente invención puede ser cualquier membrana mucosa del mamífero a la que se le va a dar la sustancia biológicamente activa, p. ej., en la nariz, vagina, ojos, boca, tracto genital, pulmones, tracto gastrointestinal o recto, preferiblemente la mucosa de la nariz, boca o vagina.

50 Los compuestos usados en la presente invención se pueden administrar por vía parenteral, es decir, por administración intravenosa, intramuscular, subcutánea, intranasal, intrarrectal, intravaginal o intraperitoneal. Las formas subcutánea e intramuscular de administración parenteral son generalmente preferidas. Las formas farmacéuticas adecuadas para dicha administración se pueden preparar mediante técnicas convencionales. Los compuestos también se pueden administrar por inhalación, que es por administración de intranasal e inhalación oral.

Las formas farmacéuticas adecuadas para dicha administración, tales como una formulación en aerosol o un inhalador de dosis medida, se pueden preparar mediante técnicas convencionales.

- 5 Los compuestos usados en la presente invención se pueden administrar con al menos otro compuesto. Los compuestos se pueden administrar simultáneamente, sea como formulaciones separadas o combinadas en una forma farmacéutica unitaria, o se pueden administrar secuencialmente.

#### Formulaciones

- 10 Aunque los compuestos o sales usados en la presente invención se pueden administrar como el producto químico solo, se prefiere presentarlos en forma de una formulación farmacéutica. Por consiguiente, la presente invención proporciona además una formulación farmacéutica, para aplicación medicinal, que comprende un compuesto usado en la presente invención o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define en la presente memoria, y un vehículo farmacéuticamente aceptable para el mismo.

- 15 Los compuestos usados en la presente invención se pueden formular en una amplia variedad de formas farmacéuticas para administración oral. Las composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas pueden comprender los compuestos usados en la presente invención o su sal farmacéuticamente aceptable o una forma cristalina de los mismos como el componente activo. Los vehículos farmacéuticamente aceptables pueden ser sólidos o líquidos. Las preparaciones en forma sólida incluyen polvos, comprimidos, píldoras, cápsulas, sellos, supositorios y gránulos dispersables. Un vehículo sólido puede ser una o más sustancias que también pueden actuar como diluyentes, agentes aromatizantes, solubilizantes, lubricantes, agentes de suspensión, aglutinantes, conservantes, agentes humectantes, agentes de disgregación de comprimidos o un material de encapsulación.

- 20 Preferiblemente, la composición tendrá de aproximadamente 0,5% a 75% en peso de un compuesto o compuestos de la invención, y consistiendo el resto en excipientes farmacéuticos adecuados. Para la administración oral, dichos excipientes incluyen calidades farmacéuticas de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, talco, celulosa, glucosa, gelatina, sacarosa, carbonato de magnesio y similares.

- 25 En polvos, el vehículo es un sólido finamente dividido que es una mezcla con el componente activo finamente dividido. En comprimidos, el componente activo se mezcla con el vehículo que tiene la capacidad aglutinante necesaria, en proporciones adecuadas y se compacta en la forma y tamaño deseados. Los polvos y comprimidos preferiblemente contienen de uno a aproximadamente setenta por ciento del compuesto activo. Los vehículos adecuados son carbonato de magnesio, estearato de magnesio, talco, azúcar, lactosa, pectina, dextrina, almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, cera de bajo punto de fusión, manteca de cacao y similares. El término "preparación" pretende incluir la formulación del compuesto activo con material de encapsulación como vehículo que proporciona una cápsula en la que el componente activo, con o sin vehículos, está rodeado por un vehículo, que está asociado con el mismo. Del mismo modo, están incluidos sellos y pastillas. Los comprimidos, polvos, cápsulas, píldoras, sellos y pastillas pueden estar en formas sólidas adecuadas para la administración oral.

- 35 Las gotas usadas en la presente invención pueden comprender soluciones o suspensiones acuosas u oleosas estériles o no estériles, y se pueden preparar disolviendo el principio activo en una solución acuosa adecuada, que incluye opcionalmente un agente bactericida y/o fungicida y/o cualquier otro conservante adecuado, y opcionalmente incluye un agente tensioactivo. La solución resultante se puede clarificar por filtración, transferir a un recipiente adecuado que después se sella y esteriliza en autoclave o se mantiene a 98-100°C durante media hora. Alternativamente, la solución se puede esterilizar por filtración y transferirse al recipiente de forma aséptica. Los ejemplos de agentes bactericidas y fungicidas adecuados para incluir en las gotas son nitrato o acetato fenilmercúrico (0,002%), cloruro de benzalconio (0,01%) y acetato de clorhexidina (0,01%). Los disolventes adecuados para preparar una solución oleosa incluyen glicerol, alcohol diluido y propilenglicol.

- 45 También se incluyen preparaciones en forma sólida que están dirigidas a convertirse, poco antes de su uso, en preparaciones en forma líquida para administración oral. Dichas formas líquidas incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones. Estas preparaciones pueden contener, además del componente activo, colorantes, aromatizantes, estabilizadores, tampones, edulcorantes artificiales y naturales, dispersantes, espesantes, agentes solubilizantes y similares.

- 50 Otras formas adecuadas para administración oral incluyen preparaciones en forma líquida que incluyen emulsiones, jarabes, elixires, soluciones acuosas, suspensiones acuosas, pasta dentífrica, dentífrico en gel, goma de mascar o preparaciones en forma sólida que están dirigidas a convertirse poco antes de su uso en preparaciones en forma líquida. Las emulsiones se pueden preparar en soluciones en soluciones acuosas de propilenglicol o pueden contener agentes emulsionantes tales como lecitina, monooleato de sorbitán o goma arábica. Las soluciones acuosas se pueden preparar disolviendo el componente activo en agua y añadiendo colorantes, aromatizantes, estabilizadores y agentes espesantes adecuados. Las suspensiones acuosas se pueden preparar dispersando el componente activo finamente dividido en agua con material viscoso, tal como gomas naturales o sintéticas, resinas, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, y otros agentes de suspensión bien conocidos. Las preparaciones en forma sólida incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones, y pueden contener, además del componente activo,

colorantes, aromatizantes, estabilizadores, tampones, edulcorantes artificiales y naturales, dispersantes, espesantes, agentes solubilizantes y similares.

Los compuestos usados en la presente invención se pueden formular para administración parenteral (p. ej., por inyección, por ejemplo inyección de bolo o infusión continua) y pueden presentarse en forma de dosis unitarias en ampollas, jeringas precargadas, infusión de pequeño volumen o en recipientes de múltiples dosis con un conservante añadido. Las composiciones pueden tomar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos aceitosos o acuosos, por ejemplo, soluciones en polietilenglicol acuoso. Los ejemplos de excipientes, diluyentes, disolventes o vehículos oleosos o no acuosos incluyen propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales (p. ej., aceite de oliva) y ésteres orgánicos inyectables (p. ej., oleato de etilo), y pueden contener agentes de formulación tales como agentes conservantes, humectantes, emulsionantes o de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. Alternativamente, el principio activo puede estar en forma de polvo, obtenido por aislamiento aséptico del sólido estéril o por liofilización de la solución para su constitución antes de usar con un vehículo adecuado, p. ej., agua estéril exenta de pirógenos.

Los aceites útiles en formulaciones parenterales incluyen aceites de petróleo, animales, vegetales o sintéticos. Los ejemplos específicos de aceites útiles en dichas formulaciones incluyen de cacahuete, soja, sésamo, semilla de algodón, maíz, oliva, vaselina y mineral. Los ácidos grasos adecuados para uso en formulaciones parenterales incluyen ácido oleico, ácido esteárico y ácido isoesteárico. El oleato de etilo y el miristato de isopropilo son ejemplos de ésteres de ácidos grasos adecuados.

Los jabones adecuados para su uso en formulaciones parenterales incluyen sales grasas de metal alcalino, amonio y trietanolamina, y los detergentes adecuados incluyen (a) detergentes catiónicos tales como, por ejemplo, haluros de dimetildialquilamonio y haluros de alquilpiridinio; (b) detergentes aniónicos tales como, por ejemplo, alquil, aril y olefin-sulfonatos, alquil, olefina, éter y monoglicérido-sulfatos, y sulfosuccinatos, (c) detergentes no iónicos tales como, por ejemplo, óxidos de aminas grasas, alcanolamidas de ácidos grasos y copolímeros de polioxietileno-polipropileno, (d) detergentes anfóteros tales como, por ejemplo, alquil-β-aminopropionatos, y sales de amonio cuaternario de 2-alquil-imidazolina, y (e) mezclas de los mismos.

Las formulaciones parenterales típicamente contendrán de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 25% en peso del principio activo en solución. Se pueden usar conservantes y tampones. Con el fin de minimizar o eliminar la irritación en el sitio de inyección, dichas composiciones pueden contener uno o más tensioactivos no iónicos que tienen un equilibrio hidrófilo-lipófilo (HLB) de aproximadamente 12 a aproximadamente 17. La cantidad de tensioactivo en dichas formulaciones variará típicamente de aproximadamente 5 a aproximadamente 15% en peso. Los tensioactivos adecuados incluyen ésteres de ácidos grasos de sorbitán polietilenado, tales como monooleato de sorbitán y los aductos de alto peso molecular de óxido de etileno con una base hidrófoba, formados por la condensación de óxido de propileno con propilenglicol. Las formulaciones parenterales se pueden presentar en envases sellados de dosis unitaria o multidosis, tales como ampollas y viales, y se puede almacenar en un estado liofilizado (congelado-secado) que requiere solamente la adición del excipiente líquido estéril, por ejemplo, agua, para inyecciones, inmediatamente antes de usar. Las soluciones y suspensiones para inyección extemporáneas se pueden preparar a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles del tipo descrito previamente.

Los compuestos usados en la presente invención también se pueden administrar por vía tópica. Las regiones para la administración tópica incluyen la superficie de la piel y también los tejidos de las membranas mucosas de la vagina, recto, nariz, boca y garganta. Las composiciones para administración tópica a través de la piel y las membranas mucosas no deben dar lugar a signos de irritación, tales como hinchazón o enrojecimiento.

La composición tópica puede incluir un vehículo farmacéuticamente aceptable adaptado para administración tópica. Por lo tanto, la composición puede tomar la forma de una suspensión, solución, pomada, loción, lubricante sexual, crema, espuma, aerosol, pulverizador, supositorio, implante, inhalador, comprimido, cápsula, polvo seco, jarabe, bálsamo o pastilla, por ejemplo. Los métodos para preparar dichas composiciones son bien conocidos en la industria farmacéutica.

Los compuestos usados en la presente invención se pueden formular para la administración tópica a la epidermis como pomadas, cremas o lociones, o como un parche transdérmico. Las pomadas y cremas se pueden formular, por ejemplo, con una base acuosa u oleosa con la adición de agentes espesantes y/o gelificantes adecuados. Las lociones se pueden formular con una base acuosa u oleosa y, en general, también contendrán uno o más agentes emulsionantes, agentes estabilizantes, agentes dispersantes, agentes de suspensión, agentes espesantes o agentes colorantes. Las formulaciones adecuadas para administración tópica en la boca incluyen pastillas que comprenden agentes activos en una base aromatizada, habitualmente sacarosa y goma arábiga o tragacanto; pastillas que comprenden el principio activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina o sacarosa y goma arábiga; y enjuagues bucales que comprenden el principio activo en un vehículo líquido adecuado.

Las cremas, pomadas o pastas usadas en la presente invención son formulaciones semisólidas del principio activo para aplicación externa. Se pueden preparar mezclando el principio activo en forma finamente dividida o en polvo, solo o en solución o suspensión en un fluido acuoso o no acuoso, con la ayuda de maquinaria adecuada, con una base grasa o no grasa. La base puede comprender hidrocarburos tales como parafina dura, blanda o líquida,

glicerol, cera de abejas, un jabón metálico; un mucílago; un aceite de origen natural tal como aceite de almendra, maíz, cacahuete, ricino u oliva; la grasa de lana o sus derivados o un ácido graso tal como ácido estérico u oleico junto con un alcohol tal como propilenglicol o un macrogel. La formulación puede incorporar cualquier agente tensioactivo adecuado tal como un tensioactivo aniónico, catiónico o no iónico tal como un éster de sorbitán o un derivado de polioxietileno del mismo. También se pueden incluir agentes de suspensión tales como gomas naturales, derivados de celulosa o materiales inorgánicos tales como sílices de silicatos y otros ingredientes tales como lanolina.

Las lociones usadas en la presente invención incluyen aquellas adecuadas para la aplicación a la piel o al ojo. Una loción para los ojos puede comprender una solución acuosa estéril que contiene opcionalmente un bactericida y se puede preparar por métodos similares a los de la preparación de colirios. Las lociones o linimentos para la aplicación a la piel también pueden incluir un agente para acelerar el secado y para enfriar la piel, como un alcohol o acetona, y/o un humectante como glicerol o un aceite como el aceite de ricino o aceite de cacahuete.

#### Suministro transdérmico

Los complejos modificadores químicos-agentes farmacéuticos descritos en la presente memoria se pueden administrar por vía transdérmica. La administración transdérmica típicamente implica el suministro de un agente farmacéutico para el paso percutáneo del fármaco a la circulación sistémica del paciente. Los sitios de la piel incluyen regiones anatómicas para la administración transdérmica del fármaco e incluyen el antebrazo, abdomen, tórax, espalda, nalgas, zona mastoidea, y similares.

El suministro transdérmico se lleva a cabo exponiendo una fuente del complejo a la piel de un paciente durante un período de tiempo prolongado. Los parches transdérmicos tienen la ventaja adicional de proporcionar suministro controlado de un complejo de agente farmacéutico-modificador químico al cuerpo. Véase "Transdermal Drug Delivery: Developmental Issues and Research Initiatives", Hadgraft y Guy (eds.), Marcel Dekker, Inc., (1989); "Controlled Drug Delivery: Fundamentals and Applications", Robinson y Lee (eds.), Marcel Dekker Inc., (1987); y "Transdermal Delivery of Drugs", vols. 1-3, Kydonieus y Berner (eds.), CRC Press, (1987)) Dichas formas farmacéuticas se puede preparar disolviendo, dispersando o incorporando de otro modo el complejo de agente farmacéutico-modificador químico en un medio adecuado, tal como un material de matriz elastómera. Los potenciadores de la absorción también se pueden usar para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad de dicho flujo se puede controlar proporcionando una membrana controladora de la velocidad o dispersando el compuesto en una matriz o gel polimérico.

#### Suministro transdérmico pasivo de fármacos

Una variedad de tipos de parches transdérmicos serán útiles en los métodos descritos en la presente memoria. Por ejemplo, se puede preparar un parche adhesivo simple a partir de un material de soporte y un adhesivo de acrilato. El complejo de agente farmacéutico-modificador químico y cualquier potenciador se formulan en la solución de moldeo adhesiva y se dejan mezclar completamente. La solución se moldea directamente sobre el material de soporte y el solvente de moldeo se evapora en un horno, dejando una película adhesiva. El forro desprendible se puede unir para completar el sistema.

Alternativamente, se puede usar un parche de matriz de poliuretano para suministrar el complejo de agente farmacéutico-modificador químico. Las capas de este parche comprenden un soporte, una matriz de poliuretano de fármaco/potenciador, una membrana, un adhesivo y un forro desprendible. La matriz de poliuretano se prepara usando un prepolímero de poliuretano de curado a temperatura ambiente. La adición de agua, alcohol y complejo al prepolímero da como resultado la formación de un elastómero firme pegajoso que puede moldearse directamente solo con el material de soporte.

Una realización adicional de esta invención usará un parche de matriz de hidrogel. Típicamente, la matriz de hidrogel comprenderá alcohol, agua, fármaco y varios polímeros hidrófilos. Esta matriz de hidrogel se puede incorporar en un parche transdérmico entre el soporte y la capa adhesiva.

El parche de depósito de líquido también será útil en los métodos descritos en la presente memoria. Este parche comprende un material de soporte termosellable, impermeable o semipermeable, una membrana termosoldable, un adhesivo para piel sensible a la presión basado en acrilato y un forro desprendible siliconado. El soporte se sella con calor a la membrana para formar un depósito que luego se puede llenar con una solución del complejo, potenciadores, agente gelificante y otros excipientes.

Los parches de matriz de espuma son similares en diseño y componentes al sistema de depósito de líquido, excepto que la solución de agente farmacéutico-modificador químico gelificada está restringida en una capa de espuma delgada, típicamente un poliuretano. Esta capa de espuma está situada entre el soporte y la membrana que se han sellados con calor en la periferia del parche.

Para los sistemas de suministro pasivo, la velocidad de liberación se controla típicamente mediante una membrana colocada entre el depósito y la piel, por difusión desde un dispositivo monolítico, o mediante la propia piel que sirve como barrera de control de la velocidad en el sistema de suministro. Véanse las patentes de EE.UU. n° 4.816.258;

4.927.408; 4.904.475; 4.588.580, 4.788.062; y similares. La velocidad de suministro del fármaco dependerá, en parte, de la naturaleza de la membrana. Por ejemplo, la velocidad de suministro del fármaco a través de las membranas dentro del cuerpo es generalmente más alta que a través de las barreras dérmicas. La velocidad a la que se suministra el complejo desde el dispositivo a la membrana se controla más ventajosamente mediante el uso de membranas limitadoras de velocidad que se colocan entre el depósito y la piel. Suponiendo que la piel es suficientemente permeable al complejo (es decir, la absorción a través de la piel es mayor que la velocidad de paso a través de la membrana), la membrana servirá para controlar la tasa de dosificación experimentada por el paciente.

Los materiales de membrana permeable adecuados se pueden seleccionar basándose en el grado deseado de permeabilidad, la naturaleza del complejo y las consideraciones mecánicas relacionadas con la construcción del dispositivo. Ejemplos de materiales de membrana permeable incluyen una amplia variedad de polímeros naturales y sintéticos, tales como polidimetilsiloxanos (cauchos de silicona), copolímero de etileno-acetato de vinilo (EVA), poliuretanos, copolímeros de poliuretano-poliéter, polietilenos, poliamidas, poli(cloruros de vinilo) (PVC), polipropilenos, policarbonatos, politetrafluoroetilenos (PTFE), materiales celulósicos, p. ej., triacetato de celulosa y nitrato/acetato de celulosa, e hidrogeles, p. ej., metacrilato de 2-hidroxietilo (HEMA).

Pueden estar contenidos otros artículos en el dispositivo, tales como otros componentes convencionales de productos terapéuticos, dependiendo de las características deseadas del dispositivo. Por ejemplo, las composiciones usadas en la presente invención también pueden incluir uno o más conservantes o agentes bacteriostáticos, p. ej., hidroxibenzoato de metilo, hidroxibenzoato de propilo, clorocresol, cloruros de benzalconio y similares. Estas composiciones farmacéuticas también pueden contener otros principios activos tales como agentes antimicrobianos, particularmente antibióticos, anestésicos, analgésicos y agentes antipruriginosos.

Los compuestos usados en la presente invención se pueden formular para administración como supositorios. Se funde primero una cera de bajo punto de fusión, tal como una mezcla de glicéridos de ácidos grasos o manteca de cacao y el componente activo se dispersa homogéneamente, por ejemplo, mediante agitación. La mezcla homogénea fundida después se vierte en moldes de tamaño conveniente, se deja enfriar y solidifica.

El compuesto activo se puede formular en un supositorio que comprende, por ejemplo, de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 50% de un compuesto de la invención, dispuesto en un vehículo de polietilenglicol (PEG) (por ejemplo, PEG 1000 [96%] y PEG 4000 [4%]).

Los compuestos usados en la presente invención se pueden formular para administración vaginal. Pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o aerosoles que contienen, además del principio activo, vehículos que se conocen en la técnica como adecuados.

Los compuestos usados en la presente invención se pueden formular para administración nasal. Las soluciones o suspensiones se aplican directamente a la cavidad nasal por medios convencionales, por ejemplo con un cuentagotas, pipeta o pulverizador. Las formulaciones se pueden proporcionar en una forma individual o multidosis. En el último caso de un cuentagotas o pipeta, esto se puede lograr administrando un volumen adecuado, predeterminado de la solución o suspensión. En el caso de un pulverizador, esto se puede lograr, por ejemplo, mediante de una bomba dosificadora de pulverización por atomización.

Los compuestos usados en la presente invención se pueden formular para administración en aerosol, en particular en las vías respiratorias y que incluyen administración intranasal. El compuesto en general tendrá un tamaño de partícula pequeño, por ejemplo del orden de 5 micrómetros o menos. Dicho tamaño de partícula se puede obtener por medios conocidos en la técnica, por ejemplo, por micronización. El principio activo se proporciona en un envase presurizado con un propulsor adecuado tal como un clorofluorocarbono (CFC), por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano o diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. El aerosol puede contener también convenientemente un tensioactivo tal como lecitina. La dosis del fármaco se puede controlar con una válvula dosificadora. Alternativamente, los principios activos se pueden proporcionar en forma de un polvo seco, por ejemplo, una mezcla en polvo del compuesto en una base en polvo adecuada tal como lactosa, almidón, derivados de almidón tales como hidroxipropilmetilcelulosa y polivinilpirrolidina (PVP). El vehículo en polvo formará un gel en la cavidad nasal. La composición en polvo se puede presentar en forma de dosis unitaria, por ejemplo, en cápsulas o cartuchos de, p. ej., envases de gelatina o blísters a partir de los cuales se puede administrar el polvo mediante un inhalador.

Cuando se desee, las formulaciones se pueden preparar con recubrimientos entéricos adaptados para la administración de liberación sostenida o controlada del principio activo.

Las preparaciones farmacéuticas están preferiblemente en formas de dosificación unitaria. En dicha forma, la preparación se subdivide en dosis unitarias que contienen cantidades adecuadas del componente activo. La forma de dosificación unitaria puede ser una preparación envasada, conteniendo el envase cantidades discretas de preparación, tales como comprimidos envasados, cápsulas y polvos en viales o ampollas. Además, la forma de dosificación unitaria puede ser una cápsula, comprimido, sello o pastilla, o puede ser el número adecuado de cualquiera de estos en forma envasada.

Sales farmacéuticamente aceptables

Las sales farmacéuticamente aceptables de los presentes compuestos, cuando pueden prepararse, también están destinadas a ser usadas por esta invención. Estas sales serán las que sean aceptables en su aplicación para un uso farmacéutico. Con esto se quiere decir que la sal retendrá la actividad biológica del compuesto original y la sal no tendrá efectos adversos o perjudiciales en su aplicación y uso en el tratamiento de enfermedades.

- 5 Las sales farmacéuticamente aceptables se preparan de una manera convencional. Si el compuesto original es una base, se trata con un exceso de un ácido orgánico o inorgánico en un disolvente adecuado. Si el compuesto original es un ácido, se trata con una base inorgánica u orgánica en un disolvente adecuado.

- 10 Los compuestos usados en la presente invención se pueden administrar en forma de una de sus sales de metal alcalino o metal alcalinotérreo, conjuntamente, simultáneamente, o junto con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable, en especial y preferiblemente en forma de una composición farmacéutica de los mismos, ya sea por vía oral, rectal o parenteral (incluida la subcutánea), en una cantidad eficaz.

- 15 Los ejemplos de sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables para usar en la composición farmacéutica incluyen los derivados de ácidos minerales, tales como ácidos clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, metafosfórico, nítrico y sulfúrico, y ácidos orgánicos, tales como ácidos tartárico, acético, cítrico, málico, láctico, fumárico, benzoico, glicólico, glucónico, succínico, p-toluenosulfónico y arilsulfónico, por ejemplo.

En una realización, la composición farmacéutica como se ha definido antes en la presente memoria se formula para administración por inyección, supositorio, administración oral, comprimido sublingual o aerosol, administración cutánea, inhalación o para administración local usando una cápsula biocompatible implantable.

- 20 En una realización adicional, la inyección es por administración intravenosa, intramuscular, intraespinal, intraperitoneal, subcutánea, en bolo o continua.

En una realización, la composición farmacéutica usada en la presente invención se administra en intervalos de 30 minutos a 24 horas.

En una realización adicional, la composición farmacéutica usada en la presente invención se administra en intervalos de 1 a 6 horas.

- 25 En una realización adicional, la composición farmacéutica usada en la presente invención se administra en intervalos de 6 a 72 horas.

En otra realización, la composición farmacéutica que comprende el antagonista/inhibidor de la sortilina según la presente invención se administra en una dosis de entre 10 µg y 500 mg por kg de masa corporal.

Resumen de las secuencias

- 30 SEC ID NO. 1: Sortilina

SEC ID NO. 2: SorLA

SEC ID NO. 3: SorCS1

SEC ID NO. 4: SorCS2

SEC ID NO. 5: SorCS3

- 35 SEC ID NO. 6: pre-pro-NGF

SEC ID NO. 7: pre-pro-BDNF

SEC ID NO. 8: Neurotrofina-3

SEC ID NO. 9: Neurotrofina-4/5

SEC ID NO. 10: Neurotensina (1-13)

- 40 SEQ ID NO 11: PYIL (extremo C de neurotensina)

SEQ ID NO 12: NT69L

SEQ ID NO 13: Péptido asociado a receptor (RAP)

SEQ ID NO 14: Apolipoproteína E (ApoE)

SEQ ID NO 15: Lipoproteína lipasa (LpL)

## Ejemplos

### Ejemplo 1: Determinación de la concentración plasmática de colesterol y lipoproteínas que contienen colesterol

Ratones de 8-12 semanas de edad se alimentaron durante 4-6 semanas con una dieta de tipo occidental, y después se llevaron a cabo las mediciones y determinación del colesterol y partículas de lipoproteínas. Se usaron las siguientes cepas: ratones genéticamente intactos y ratones que carecían de expresión de sortilina (Jansen et al., *Nat. Neurosci.* (2007) 10:1449-), ratones deficientes en el receptor de LDL (LDLR) (Ishibashi et al. (1993) *J. Clin. Invest.* 92:883-), ratones con inactivación génica de SorLA (Andersen et al., *PNAS* (2005) 102:13461-) y ratones con expresión alterada de la ApoE (Zhang et al., *Science* (1992) 258:468-). Los ratones se entrecruzaron para generar una línea que carecía de expresión de sortilina y LDLR y una línea desprovista tanto de ApoE como de SorLA. Se tomaron muestras de sangre por la mañana después de 12 h de ayuno, por sangrado retroorbital de los animales anestesiados con éter. La sangre se transfirió a tubos recubiertos de heparina sobre hielo. Después de centrifugación a 5400 rpm (3000 g) durante 15 min a 4°C, se determinó el colesterol total usando un kit de "Cholesterol CHOD-PAP" de Roche/Hitachi. Brevemente, el colesterol se midió mezclando las muestras con reactivos CHOD-PAP para el colesterol. Después de incubación, se midió la densidad óptica (D.O.) a 492 nm. Se hizo una curva de calibración de una referencia de colesterol en el mismo experimento. Se mostraron niveles menores de colesterol en ratones con inactivación génica de sortilina, comparado con las crías de la misma camada de control.

Además, los ratones con doble inactivación génica de sortilina/LDLR están protegidos frente al aumento de los niveles de colesterol observados en los ratones con inactivación génica de LDLR. En cambio, los ratones que carecían de SorLA tienen niveles mayores de colesterol plasmático y la deficiencia tanto de SorLA como de ApoE produce niveles mayores de colesterol que la deficiencia de solo ApoE.

Se llevaron a cabo mediciones de los perfiles de lipoproteínas por análisis de FPLC usando un aparato ÄKTA. Las lipoproteínas se separaron en una columna SuperoseTM 6 PC3.2/30 con un AKTATMpurifier10 usando el método de TimeSuperose6 en el programa Unicorn 5.11 (GE Healthcare). Brevemente, se diluyó el plasma a <5 mmol/l de colesterol antes de inyección. Se inyectaron 50 µl de la muestra diluida en la columna. El análisis se llevó a cabo en las muestras recién preparadas. Posteriormente se midió el colesterol en las fracciones (véase antes). Es evidente que los ratones tipo sortilina/- se caracterizan por niveles reducidos de LDL comparado con los ratones de control. Igualmente los ratones que carecen tanto de sortilina como de LDLR tienen menores concentraciones de LDL comparado con ratones que carecen solo de la expresión de LDLR. Hay que destacar que los ratones con doble inactivación génica de SorLA/ApoE se caracterizan por concentraciones de VLDL notablemente superiores que las observadas para ratones que carecen solo de la expresión de ApoE/-/. Los datos demuestran que la sortilina y SorLA son capaces de modificar los niveles de colesterol y las concentraciones in vivo de LDL (para la sortilina) y de VLDL (para SorLA).

### Ejemplo 2: Determinación de la concentración plasmática de triglicéridos y lipoproteínas que contienen triglicéridos

Ratones de 8-12 semanas de edad se alimentaron durante 4-6 semanas con una dieta de tipo occidental, y se usaron las mediciones de colesterol y determinación de partículas de lipoproteínas. Se usaron las siguientes cepas: ratones genéticamente intactos, ratones que carecían de expresión de sortilina (Jansen et al., (2007) *Nat. Neurosci.* 10:1449-), ratones deficientes en el receptor de LDL (LDLR) (Ishibashi et al. (1993) *J. Clin. Invest.* 92 :883-), ratones con inactivación génica de SorLA (Andersen et al., *PNAS* (2005) 102:13461-) y ratones con expresión alterada de la ApoE (Zhang et al., *Science* (1992) 258:468-). Los ratones se entrecruzaron para generar una línea que carecía de expresión de sortilina y LDLR y una línea desprovista tanto de ApoE como de SorLA. Se tomaron muestras de sangre por la mañana después de 12 h de ayuno, por sangrado retroorbital de los animales anestesiados con éter. La sangre se transfirió a tubos recubiertos de heparina sobre hielo. Después de centrifugación a 5400 rpm (3000 g) durante 15 min a 4°C, se determinaron los triglicéridos usando un kit disponible en el comercio "Triglycerides GPO-PAP" (Roche/Hitachi). Los triglicéridos totales se determinaron mezclando las muestras con reactivos GPO-PAP para triglicéridos de Roche/Hitachi. Después de incubación, se midió la D.O. a 492 nm.

Se hizo una curva de calibración de una referencia de glicerol en el mismo experimento. Se muestran niveles de triglicéridos ligeramente aumentados en ratones LDLR/- cuando se compararon con las crías de la misma camada de control. Igualmente, los ratones desprovistos tanto de ApoE como de SorLA se caracterizan por niveles mayores de triglicéridos que los animales que carecen solo de ApoE, en cambio los ratones que carecen de SorLA tienen mayores niveles de colesterol plasmático y la deficiencia tanto de SorLA como de ApoE produce mayores niveles de colesterol que la deficiencia de ApoE solo. Se llevaron a cabo mediciones de las lipoproteínas con triglicéridos usando FPLC en un aparato ÄKTA. Las lipoproteínas se separaron en una columna SuperoseTM 6 PC3.2/30 con un ÄKTA purifier10 usando el método de TimeSuperose6 en el programa Unicorn 5.11 (GE Healthcare). Brevemente, se diluyó el plasma a <5 mmol/l de colesterol antes de inyección. Se inyectaron 50 µl de la muestra diluida en la columna. El análisis se llevó a cabo en las muestras recién preparadas. Posteriormente se midieron los triglicéridos en las fracciones (véase antes).

### Ejemplo 3: Evaluación del efecto del exceso de expresión de sortilina usando vectores adenovíricos

Ratones de 8 semanas de edad se alimentaron durante 4 semanas (de día -14 a día 14) con una dieta de tipo occidental, después de lo cual se hicieron las mediciones y determinación del colesterol (y triglicéridos y ALAT) y partículas de lipoproteínas (día 0, 7 y 14). Se usaron ratones genéticamente intactos. Se tomaron muestras de sangre por la mañana después de 12 h de ayuno, por sangrado retroorbital de los animales anestesiados con éter. La sangre se transfirió a tubos recubiertos de heparina sobre hielo. Después de centrifugación a 5400 rpm (3000 g) durante 15 min a 4°C, se determinó el colesterol total usando un kit de "Cholesterol CHOD-PAP" de Roche/Hitachi. El día 0, se inyectó a los ratones en la vena de la cola un vector adenovírico con sortilina o LacZ. Las mediciones del colesterol se hicieron el día 7 y 14, para evaluar el efecto de la proteína. En la figura 6 se ilustra el efecto. Los ratones con exceso de expresión de sortilina presentan un aumento notable del colesterol comparado con el día 0. Este aumento no se vio en ratones que recibieron LacZ. Se aplicó la transferencia Western a los hígados para verificar la cantidad aumentada de sortilina, y se llevó a cabo la tinción para LacZ para comprobar los ratones que recibieron el vector vírico con LacZ. Una transferencia Western de las apoproteínas B y E muestra un notable aumento de ApoB100 en ratones que recibieron el adenovirus con sortilina.

Ejemplo 4: Método de cribado in vitro para identificar antagonistas y ligandos del receptor con dominio Vps10p. (No forma parte de la invención y es solo para propósito ilustrativo)

La determinación de la unión directa del ligando a proteína inmovilizada se puede llevar a cabo por análisis de resonancia de plasmón de superficie (Biacore, Suecia) usando CaHBS como tampón de desarrollo convencional (HEPES 10 mM, pH 7,4, NaCl 140 mM, CaCl<sub>2</sub> 2 mM, EGTA 1 mM, y Tween-20 al 0,005%). Un chip biosensor de Biacore (CM5, n° de cat. BR-1000-14) se activa usando el método de NHS/EDC tal como lo describe el proveedor, seguido de revestimiento con un receptor que pertenece a la familia de receptores con dominio Vps10p. Se pueden aplicar varias metodologías diferentes: Los antagonistas del receptor candidatos se pueden identificar comparando la señal de unión (unidades de respuesta) a un chip inmovilizado con uno de los receptores y comparando esta señal con una celda de flujo vacía. En otra metodología, la inhibición de un ligando establecido se puede seguir en ausencia o presencia de inhibidores putativos. La diferencia en la señal representa el potencial inhibidor del antagonista. Los datos recogidos se analizaron mediante el ajuste de sensogramas para las estimaciones de afinidad y potencial inhibidor utilizando el programa Biaevaluation versión 3.1.

Se evaluaron las propiedades de unión de ApoB a la sortilina. A) Después de calibración de los valores iniciales en tampón de desarrollo (Hepes 10 mM, NaCl 150 mM, EGTA 1 mM, CaCl<sub>2</sub> 1,5 mM, P20 al 0,005%, pH 7,4), se aplicó al chip IgG de conejo anti-sortilina 10 µg/ml (Nykjaer et al., *Nature* (2004) 427:843-848) o tampón de desarrollo solo. En t = 700 s, las unidades de respuesta obtenidas en presencia de la IgG anti-sortilina se ajustaron de forma arbitraria a 100 y se aplicó ApoB 50 nM a la celda de flujo preincubada con anticuerpo o solo con tampón. La asociación de la unión de ApoB se midió hasta 1200 segundos, después de lo cual el soluto se cambió a tampón para permitir la disociación. B) Datos extraídos del panel A. La unión de la ApoB en t = 1200 segundos a la celda de flujo después de preincubación con tampón de desarrollo solo (= máxima unión de ApoB) se ajustó a 100 unidades de respuesta relativas. Cuando se preincubó con el anticuerpo anti-sortilina inhibidor, no se observó unión de ApoB. C) Análisis por resonancia de plasmón de superficie de la unión de ApoB (10, 20, 50 nM) a la sortilina inmovilizada. Se registraron las velocidades de asociación y disociación, y el valor de K<sub>d</sub> era 0,4 nM para la unión a la sortilina en el experimento presentado. Por lo tanto, la ApoB se puede unir a la sortilina con alta afinidad, y esta unión se puede inhibir con anticuerpos o neurotensina (NT).

El ensayo de resonancia de plasmón de superficie puede ser fácilmente transformado en otros ensayos en los que el receptor con dominio Vps10p, el ligando o el inhibidor putativo se inmoviliza sobre una fase sólida. Por ejemplo, los receptores se pueden inmovilizar, por ejemplo en pocillos de microvaloración Maxisorp de Nunc (n° de cat. 439454) mediante incubación durante 16 horas a 4°C en NaHCO<sub>3</sub> 50 mM, pH 9,6. Después del bloqueo usando albúmina de suero bovino al 5% (Sigma, n° de cat. A9647) durante 2 horas a temperatura ambiente, los pocillos se lavan tres veces con tampón MB (HEPES 10 mM, pH 7,4, NaCl 140 mM, CaCl<sub>2</sub> 2 mM, y MgCl<sub>2</sub> 1 mM) antes de la incubación con un ligando marcado (por ejemplo, yodado) en ausencia o presencia de varias concentraciones de un inhibidor candidato. Después de la incubación (por ejemplo, durante la noche a 4°C) y lavado con tampón MB, la radiactividad unida es liberada añadiendo SDS al 10%. Se determina la unión no específica de trazador a pocillos recubiertos sólo con albúmina de suero bovino y se resta de los valores determinados en los experimentos de unión. El punto de medición de la unión se puede ajustar a ecuaciones de unión usando el software Prism de GraphPad, versión 4. Del mismo modo, el antagonista se puede marcar y medir directamente la unión al receptor inmovilizado. En otra configuración más, el receptor, ligando o antagonista se pueden inmovilizar sobre perlas de centelleo y medir la unión en un ensayo de centelleo por proximidad en el que la molécula de unión al receptor se ha marcado usando radiactividad.

Ejemplo 5: Un método de cribado basado en células para identificar antagonistas de receptores con dominio Vps10p. (No forma parte de la invención y es solo para propósito ilustrativo).

La determinación de la unión, internalización o señalización por miembros de la familia de receptores con dominio Vps10p, se puede llevar a cabo en sistemas celulares. Células que expresan uno de los receptores, sea de forma endógena o después, p. ej., de transfección con un plásmido que contiene el ADNc del receptor, se incuban con un ligando radiomarcado, en ausencia y presencia respectivamente, de un compuesto inhibidor/antagonista candidato. Después de incubación, las células se lavan para separar la unión no específica y posteriormente se recogen. El

grado de unión del inhibidor/antagonista candidato al receptor se determina usando un ensayo de radioligando convencional conocido para los expertos en la técnica. Véase, por ejemplo, Bylund y Toews (1993) *Am. J. Physiol.* 265 (5 Pt1):L421-9 titulado "Radioligand binding methods: practical guide and tips". Igualmente, la endocitosis/internalización se pueden determinar cómo describen Nykjæer et al. (1992) *FEBS* 300:13- y Nielsen et al. (2001) *EMBO J.*, 20:2180-.

Ejemplo 6: Un método de cribado in vivo para identificar antagonistas de receptores con dominio Vps10p. (No forma parte de la invención y es solo para propósito ilustrativo)

La identificación de antagonistas candidatos capaces de inhibir la unión y/o internalización y/o señalización de un receptor con dominio Vps10p, se lleva a cabo en ratones genéticamente intactos u otros animales adecuados para este fin. Los animales se alimentan con una dieta de tipo occidental rica en lípidos durante un periodo de 4-6 semanas, durante cuyo periodo se administran a dicho animal antagonistas candidatos potencialmente capaces de inhibir la unión a, internalización por, y señalización a través de un receptor con dominio Vps10p (seleccionado del grupo que consiste en las SEQ ID NO. 1 a 5). Los animales de control se alimentan con una comida normal de una dieta de tipo occidental rica en lípidos durante un periodo de 4-6 semanas en ausencia de compuestos antagonistas candidatos. Al final del periodo, los animales se dejan en ayunas una noche y se toman muestras de plasma y se analiza el nivel de colesterol en los dos grupos de animales. La diferencia entre el grupo al que se ha administrado el antagonista candidato y el grupo de control indican el grado de inhibición.

Ejemplo 7: Un método de cribado in vivo para identificar antagonistas de receptores con dominio Vps10p. (No forma parte de la invención y es solo para propósito ilustrativo).

La identificación de antagonistas candidatos capaces de inhibir la unión y/o internalización y/o señalización de un receptor con dominio Vps10p, se lleva a cabo en ratones genéticamente intactos u otros animales adecuados para este fin. Los animales se alimentan con una dieta de tipo occidental rica en lípidos durante un periodo de 4-6 semanas, durante cuyo periodo se administran a dicho animal antagonistas candidatos radiomarcados potencialmente capaces de inhibir la unión a, internalización por, y señalización a través de un receptor con dominio Vps10p. Los animales de control se alimentan con una dieta de tipo occidental rica en lípidos durante un periodo de 4-6 semanas en ausencia de dichos compuestos antagonistas candidatos radiomarcados. Al final del periodo, los animales se dejan en ayunas una noche y se sacrifican, después de lo cual se diseccionan tejidos representativos y se determina la cantidad de ligando radiomarcado unido y/o acumulado usando un ensayo de centelleo convencional.

Ejemplo 8: Una evaluación in vivo de la potencia del antagonista del receptor con dominio Vps10p

Un paciente hipercolesterolémico se trata con un tratamiento convencional (p. ej., una estatina) o régimen dietético, de modo que se determina el nivel de colesterol en el suero. Posteriormente, el paciente sustituye su tratamiento con estatina durante 1 mes por el antagonista del receptor con dominio Vps10p durante hasta 4-6 semanas con una preparación de acuerdo con la presente invención, de modo que se determina de nuevo el nivel de colesterol y se compara con el nivel obtenido con o sin el tratamiento convencional (p. ej., una estatina) o régimen dietético.

Ejemplo 9: Método de tratamiento

Se diagnostica a un hombre de 55 años de edad una hiperlipidemia grave. El médico a cargo decide que el paciente recibirá antagonistas del receptor con dominio Vps10p para reducir los niveles de lípidos plasmáticos anómalos. Se administra una inyección de bolo subcutáneo o intravenosa de un compuesto de esta invención. La dosis está en el intervalo de 0,5 mg/kg a 50 mg/kg. En el hospital se controlan continuamente los niveles plasmáticos de lípidos así como el estado general del paciente, hasta que se obtiene un nivel plasmático de lípidos estable normal. Se prescribe al paciente inyección o un equivalente disponible por vía oral del compuesto de la invención inyectado en el hospital. La dosis oral está en el intervalo de 0,5 mg/kg a 50 mg/kg de peso corporal.

Ejemplo 10: Método de tratamiento

Se diagnostica a un hombre de 55 años de edad hipercolesterolemia durante un periodo más largo. La intervención convencional no ha reducido suficientemente el colesterol plasmático. Una medición de la sortilina en el hígado muestra niveles altos. Se decide en el departamento reducir la concentración de sortilina en el hígado usando un ARNip dirigido al hígado. En el hospital, se controlan continuamente los niveles de lípidos plasmáticos así como el estado general del paciente hasta que se obtiene un nivel plasmático de lípidos estable normal. Se prescribe al paciente inyección o un equivalente disponible por vía oral del compuesto de la invención inyectado en el hospital.

Referencias

1. Goldstein, J. L., Hobbs, H. H. y Brown, M. S. (2001). Familial Hypercholesterolemia. In: *Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease* 8ª edición, New York: McGraw-Hill, 2863-2913.
2. Tannock LR. Advances in the management of hyperlipidemia-induced atherosclerosis. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2008 Mar;6(3):369-83.
3. Charlton-Menys V, Durrington PN. Human cholesterol metabolism and therapeutic molecules. *Exp Physiol.* 2008 Jan;93(1):27-42..
4. Baker SK, Samjoo IA. A neuromuscular approach to statin-related myotoxicity. *Can J Neurol Sci.* 2008 Mar;35(1):8-21.
5. Radcliffe KA, Campbell WW. Statin myopathy. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2008 Jan;8(1):66-72.
6. Petersen et al., *J. Biol. Chem.*, 272:3599-3605 (1997)
7. Herman-Borgmeyer et al., *Mol. Brain Res.*, 65:216-219 (1999)
8. Jacobsen et al., *J. Biol. Chem.*, 271:31379-31383 (1996)
9. Marcusson, E.G., et al., *Cell*, 77:579-586 (1994)
10. J. Mazella et al., *J Biol Chem* 273, 26273 (1998).
11. C. Munck Petersen et al., *Embo J* 18, 595 (1999).
12. A. Nykjaer et al., *Nature* 427, 843 (2004).
13. H. K. Teng et al., *J Neurosci* 25, 5455 (2005).
14. U. B. Westergaard et al., *J Biol Chem* 279, 50221 (2004).
15. S. Maeda et al., *J Cell Physiol* 193, 73 (2002).
16. M. S. Nielsen, C. Jacobsen, G. Olivecrona, J. Gliemann, C. M. Petersen, *J Biol Chem* 274, 8832 (1999).
17. M. S. Nielsen et al., *Embo J* 20, 2180 (2001).
18. K. Nakamura, K. Namekata, C. Harada, T. Harada, *Cell Death Differ* 14, 1552 (2007).
19. P. Jansen et al., *Nat Neurosci* 10, 1449 (2007).
20. P. Chalon et al., *FEBS Lett* 386, 91 (1996).
21. L. Jacobsen et al., *J Biol Chem* 276, 22788 (2001).
22. K. Tanaka, M. Masu, S. Nakanishi, *Neuron* 4, 847 (1990).
23. J. P. Vincent, J. Mazella, P. Kitabgi, *Trends Pharmacol Sci* 20, 302 (1999).
24. Willer et al. (2008) *Nature Genetics* 40(2): 161-169
25. Kathiresan et al. (2008) *Nature Genetics* 40(2): 189-97
26. U.B. Westergaard, K. Kirkegaard, E.S. Sørensen, C. Jacobsen, M.S. Nielsen, C.M. Petersen, P. Madsen, (2005) *FEBS Letters* 579:1172–1176

27. Clee SM, Yandell BS, Schueler KM, Rabaglia OC, Richards OC, Raines SM, Kabara EA, Klass DM, Mui ET, Stapleton DS, Gray-Keller MP, Young MB, Stoehr JP, Lan H, Boronenkov I et al. Positional cloning of SorCS1, a type 2 diabetes quantitative trait locus. (2006) *Nature Genetics* 38:688–693
28. Goodarzi MO, Lehman DM, Taylor KD, Guo X, Cui J, Quinones MJ, Clee SM, Blangero J, Hsueh WA, Attie AD, Stern MP, Rotter JI. SorCS1: a novel human type 2 diabetes susceptibility gene suggested by the mouse. (2007) *Diabetes* 56:1922–1929.
29. Granhall, C., Rosengren, A.H., Renström, E., Luthman, H. (2006) *Diabetes* 55: 3494-3500.
30. Quistgaard et al, *Nat. Struc. Mol. Biol.* (2009) 16: 96-98

LISTA DE SECUENCIAS

5 <110> NeuronIcon ApS  
 <120> Modulación de los receptores con dominio Vps10p para el tratamiento de la enfermedad cardiovascular  
 <130> P1895PC00

10 <160> 15  
 <170> PatentIn versión 3.5

15 <210> 1  
 <211> 831  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

20 <220>  
 <221> SEÑAL  
 <222> (1)..(33)  
 <223>

25 <220>  
 <221> PROPEP  
 <222> (34)..(77)  
 <223> Propéptido de Sortilina

30 <220>  
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA  
 <222> (78)..(755)  
 <223> Parte extracelular de la Sortilina (sSortilina)

35 <220>  
 <221> TRANSMEM  
 <222> (756)..(778)  
 <223> Parte de membrana de la Sortilina

40 <220>  
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA  
 <222> (779)..(831)  
 <223> Dominio intracelular (citoplasmático) de Sortilina

<400> 1  
 Met Glu Arg Pro Trp Gly Ala Ala Asp Gly Leu Ser Arg Trp Pro His  
 1 5 10 15

Gly Leu Gly Leu Leu Leu Leu Leu Gln Leu Leu Pro Pro Ser Thr Leu  
 20 25 30

Ser Gln Asp Arg Leu Asp Ala Pro Pro Pro Pro Ala Ala Pro Leu Pro  
 35 40 45

Arg Trp Ser Gly Pro Ile Gly Val Ser Trp Gly Leu Arg Ala Ala Ala  
 50 55 60

45 Ala Gly Gly Ala Phe Pro Arg Gly Gly Arg Trp Arg Arg Ser Ala Pro

ES 2 680 222 T3

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| 65  |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |     |  |  |
| Gly | Glu | Asp | Glu | Glu | Cys | Gly | Arg | Val | Arg | Asp | Phe | Val | Ala | Lys | Leu |  |  |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     |     | 95  |     |  |  |
| Ala | Asn | Asn | Thr | His | Gln | His | Val | Phe | Asp | Asp | Leu | Arg | Gly | Ser | Val |  |  |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |  |  |
| Ser | Leu | Ser | Trp | Val | Gly | Asp | Ser | Thr | Gly | Val | Ile | Leu | Val | Leu | Thr |  |  |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |  |  |
| Thr | Phe | His | Val | Pro | Leu | Val | Ile | Met | Thr | Phe | Gly | Gln | Ser | Lys | Leu |  |  |
| 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |     |  |  |
| Tyr | Arg | Ser | Glu | Asp | Tyr | Gly | Lys | Asn | Phe | Lys | Asp | Ile | Thr | Asp | Leu |  |  |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |  |
| Ile | Asn | Asn | Thr | Phe | Ile | Arg | Thr | Glu | Phe | Gly | Met | Ala | Ile | Gly | Pro |  |  |
|     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |     |  |  |
| Glu | Asn | Ser | Gly | Lys | Val | Val | Leu | Thr | Ala | Glu | Val | Ser | Gly | Gly | Ser |  |  |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |  |
| Arg | Gly | Gly | Arg | Ile | Phe | Arg | Ser | Ser | Asp | Phe | Ala | Lys | Asn | Phe | Val |  |  |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |  |
| Gln | Thr | Asp | Leu | Pro | Phe | His | Pro | Leu | Thr | Gln | Met | Met | Tyr | Ser | Pro |  |  |
| 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |     |  |  |
| Gln | Asn | Ser | Asp | Tyr | Leu | Leu | Ala | Leu | Ser | Thr | Glu | Asn | Gly | Leu | Trp |  |  |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |  |
| Val | Ser | Lys | Asn | Phe | Gly | Gly | Lys | Trp | Glu | Glu | Ile | His | Lys | Ala | Val |  |  |
|     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |     |  |  |
| Cys | Leu | Ala | Lys | Trp | Gly | Ser | Asp | Asn | Thr | Ile | Phe | Phe | Thr | Thr | Tyr |  |  |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |  |
| Ala | Asn | Gly | Ser | Cys | Lys | Ala | Asp | Leu | Gly | Ala | Leu | Glu | Leu | Trp | Arg |  |  |
| 275 |     |     |     |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |  |  |
| Thr | Ser | Asp | Leu | Gly | Lys | Ser | Phe | Lys | Thr | Ile | Gly | Val | Lys | Ile | Tyr |  |  |
| 290 |     |     |     |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |  |  |
| Ser | Phe | Gly | Leu | Gly | Gly | Arg | Phe | Leu | Phe | Ala | Ser | Val | Met | Ala | Asp |  |  |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |  |

# ES 2 680 222 T3

Lys Asp Thr Thr Arg Arg Ile His Val Ser Thr Asp Gln Gly Asp Thr  
 325 330 335  
 Trp Ser Met Ala Gln Leu Pro Ser Val Gly Gln Glu Gln Phe Tyr Ser  
 340 345 350  
 Ile Leu Ala Ala Asn Asp Asp Met Val Phe Met His Val Asp Glu Pro  
 355 360 365  
 Gly Asp Thr Gly Phe Gly Thr Ile Phe Thr Ser Asp Asp Arg Gly Ile  
 370 375 380  
 Val Tyr Ser Lys Ser Leu Asp Arg His Leu Tyr Thr Thr Thr Gly Gly  
 385 390 395 400  
 Glu Thr Asp Phe Thr Asn Val Thr Ser Leu Arg Gly Val Tyr Ile Thr  
 405 410 415  
 Ser Val Leu Ser Glu Asp Asn Ser Ile Gln Thr Met Ile Thr Phe Asp  
 420 425 430  
 Gln Gly Gly Arg Trp Thr His Leu Arg Lys Pro Glu Asn Ser Glu Cys  
 435 440 445  
 Asp Ala Thr Ala Lys Asn Lys Asn Glu Cys Ser Leu His Ile His Ala  
 450 455 460  
 Ser Tyr Ser Ile Ser Gln Lys Leu Asn Val Pro Met Ala Pro Leu Ser  
 465 470 475 480  
 Glu Pro Asn Ala Val Gly Ile Val Ile Ala His Gly Ser Val Gly Asp  
 485 490 495  
 Ala Ile Ser Val Met Val Pro Asp Val Tyr Ile Ser Asp Asp Gly Gly  
 500 505 510  
 Tyr Ser Trp Thr Lys Met Leu Glu Gly Pro His Tyr Tyr Thr Ile Leu  
 515 520 525  
 Asp Ser Gly Gly Ile Ile Val Ala Ile Glu His Ser Ser Arg Pro Ile  
 530 535 540  
 Asn Val Ile Lys Phe Ser Thr Asp Glu Gly Gln Cys Trp Gln Thr Tyr  
 545 550 555 560  
 Thr Phe Thr Arg Asp Pro Ile Tyr Phe Thr Gly Leu Ala Ser Glu Pro  
 565 570 575

# ES 2 680 222 T3

Gly Ala Arg Ser Met Asn Ile Ser Ile Trp Gly Phe Thr Glu Ser Phe  
580 585 590

Leu Thr Ser Gln Trp Val Ser Tyr Thr Ile Asp Phe Lys Asp Ile Leu  
595 600 605

Glu Arg Asn Cys Glu Glu Lys Asp Tyr Thr Ile Trp Leu Ala His Ser  
610 615 620

Thr Asp Pro Glu Asp Tyr Glu Asp Gly Cys Ile Leu Gly Tyr Lys Glu  
625 630 635 640

Gln Phe Leu Arg Leu Arg Lys Ser Ser Val Cys Gln Asn Gly Arg Asp  
645 650 655

Tyr Val Val Thr Lys Gln Pro Ser Ile Cys Leu Cys Ser Leu Glu Asp  
660 665 670

Phe Leu Cys Asp Phe Gly Tyr Tyr Arg Pro Glu Asn Asp Ser Lys Cys  
675 680 685

Val Glu Gln Pro Glu Leu Lys Gly His Asp Leu Glu Phe Cys Leu Tyr  
690 695 700

Gly Arg Glu Glu His Leu Thr Thr Asn Gly Tyr Arg Lys Ile Pro Gly  
705 710 715 720

Asp Lys Cys Gln Gly Gly Val Asn Pro Val Arg Glu Val Lys Asp Leu  
725 730 735

Lys Lys Lys Cys Thr Ser Asn Phe Leu Ser Pro Glu Lys Gln Asn Ser  
740 745 750

Lys Ser Asn Ser Val Pro Ile Ile Leu Ala Ile Val Gly Leu Met Leu  
755 760 765

Val Thr Val Val Ala Gly Val Leu Ile Val Lys Lys Tyr Val Cys Gly  
770 775 780

Gly Arg Phe Leu Val His Arg Tyr Ser Val Leu Gln Gln His Ala Glu  
785 790 795 800

Ala Asn Gly Val Asp Gly Val Asp Ala Leu Asp Thr Ala Ser His Thr  
805 810 815

Asn Lys Ser Gly Tyr His Asp Asp Ser Asp Glu Asp Leu Leu Glu  
820 825 830

<210> 2  
<211> 2214  
5 <212> PRT  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> SIGNAL  
10 <222> (1)..(28)  
<223> Péptido señal de SorLA

<220>

<221> PROPEP

<222> (29) .. (81)

<223> Propéptido de SorLA

5

<400> 2

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

Thr Leu Val Ala Leu Leu Pro Pro Gly Ala Leu Cys Glu Val Trp Thr  
20 25 30

Gln Arg Leu His Gly Gly Ser Ala Pro Leu Pro Gln Asp Arg Gly Phe  
35 40 45

Leu Val Val Gln Gly Asp Pro Arg Glu Leu Arg Leu Trp Ala Arg Gly  
50 55 60

Asp Ala Arg Gly Ala Ser Arg Ala Asp Glu Lys Pro Leu Arg Arg Lys  
65 70 75 80

Arg Ser Ala Ala Leu Gln Pro Glu Pro Ile Lys Val Tyr Gly Gln Val  
85 90 95

Ser Leu Asn Asp Ser His Asn Gln Met Val Val His Trp Ala Gly Glu  
100 105 110

Lys Ser Asn Val Ile Val Ala Leu Ala Arg Asp Ser Leu Ala Leu Ala  
115 120 125

Arg Pro Lys Ser Ser Asp Val Tyr Val Ser Tyr Asp Tyr Gly Lys Ser  
130 135 140

Phe Lys Lys Ile Ser Asp Lys Leu Asn Phe Gly Leu Gly Asn Arg Ser  
145 150 155 160

Glu Ala Val Ile Ala Gln Phe Tyr His Ser Pro Ala Asp Asn Lys Arg  
165 170 175

# ES 2 680 222 T3

Tyr Ile Phe Ala Asp Ala Tyr Ala Gln Tyr Leu Trp Ile Thr Phe Asp  
 180 185 190

Phe Cys Asn Thr Leu Gln Gly Phe Ser Ile Pro Phe Arg Ala Ala Asp  
 195 200 205

Leu Leu Leu His Ser Lys Ala Ser Asn Leu Leu Leu Gly Phe Asp Arg  
 210 215 220

Ser His Pro Asn Lys Gln Leu Trp Lys Ser Asp Asp Phe Gly Gln Thr  
 225 230 235 240

Trp Ile Met Ile Gln Glu His Val Lys Ser Phe Ser Trp Gly Ile Asp  
 245 250 255

Pro Tyr Asp Lys Pro Asn Thr Ile Tyr Ile Glu Arg His Glu Pro Ser  
 260 265 270

Gly Tyr Ser Thr Val Phe Arg Ser Thr Asp Phe Phe Gln Ser Arg Glu  
 275 280 285

Asn Gln Glu Val Ile Leu Glu Glu Val Arg Asp Phe Gln Leu Arg Asp  
 290 295 300

Lys Tyr Met Phe Ala Thr Lys Val Val His Leu Leu Gly Ser Glu Gln  
 305 310 315 320

Gln Ser Ser Val Gln Leu Trp Val Ser Phe Gly Arg Lys Pro Met Arg  
 325 330 335

Ala Ala Gln Phe Val Thr Arg His Pro Ile Asn Glu Tyr Tyr Ile Ala  
 340 345 350

Asp Ala Ser Glu Asp Gln Val Phe Val Cys Val Ser His Ser Asn Asn  
 355 360 365

Arg Thr Asn Leu Tyr Ile Ser Glu Ala Glu Gly Leu Lys Phe Ser Leu  
 370 375 380

Ser Leu Glu Asn Val Leu Tyr Tyr Ser Pro Gly Gly Ala Gly Ser Asp  
 385 390 395 400

Thr Leu Val Arg Tyr Phe Ala Asn Glu Pro Phe Ala Asp Phe His Arg  
 405 410 415

Val Glu Gly Leu Gln Gly Val Tyr Ile Ala Thr Leu Ile Asn Gly Ser  
 420 425 430

# ES 2 680 222 T3

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| Met | Asn | Glu | Glu | Asn | Met | Arg | Ser | Val | Ile | Thr | Phe | Asp | Lys | Gly | Gly |  |  |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |  |
| Thr | Trp | Glu | Phe | Leu | Gln | Ala | Pro | Ala | Phe | Thr | Gly | Tyr | Gly | Glu | Lys |  |  |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |  |  |
| Ile | Asn | Cys | Glu | Leu | Ser | Gln | Gly | Cys | Ser | Leu | His | Leu | Ala | Gln | Arg |  |  |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |  |  |
| Leu | Ser | Gln | Leu | Leu | Asn | Leu | Gln | Leu | Arg | Arg | Met | Pro | Ile | Leu | Ser |  |  |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     |     | 495 |  |  |
| Lys | Glu | Ser | Ala | Pro | Gly | Leu | Ile | Ile | Ala | Thr | Gly | Ser | Val | Gly | Lys |  |  |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |     |  |  |
| Asn | Leu | Ala | Ser | Lys | Thr | Asn | Val | Tyr | Ile | Ser | Ser | Ser | Ala | Gly | Ala |  |  |
|     |     | 515 |     |     |     |     | 520 |     |     |     |     | 525 |     |     |     |  |  |
| Arg | Trp | Arg | Glu | Ala | Leu | Pro | Gly | Pro | His | Tyr | Tyr | Thr | Trp | Gly | Asp |  |  |
|     | 530 |     |     |     |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |     |     |     |  |  |
| His | Gly | Gly | Ile | Ile | Thr | Ala | Ile | Ala | Gln | Gly | Met | Glu | Thr | Asn | Glu |  |  |
| 545 |     |     |     |     | 550 |     |     |     |     | 555 |     |     |     |     | 560 |  |  |
| Leu | Lys | Tyr | Ser | Thr | Asn | Glu | Gly | Glu | Thr | Trp | Lys | Thr | Phe | Ile | Phe |  |  |
|     |     |     |     | 565 |     |     |     |     | 570 |     |     |     |     | 575 |     |  |  |
| Ser | Glu | Lys | Pro | Val | Phe | Val | Tyr | Gly | Leu | Leu | Thr | Glu | Pro | Gly | Glu |  |  |
|     |     |     | 580 |     |     |     |     | 585 |     |     |     |     | 590 |     |     |  |  |
| Lys | Ser | Thr | Val | Phe | Thr | Ile | Phe | Gly | Ser | Asn | Lys | Glu | Asn | Val | His |  |  |
|     |     | 595 |     |     |     |     | 600 |     |     |     |     | 605 |     |     |     |  |  |
| Ser | Trp | Leu | Ile | Leu | Gln | Val | Asn | Ala | Thr | Asp | Ala | Leu | Gly | Val | Pro |  |  |
|     | 610 |     |     |     |     | 615 |     |     |     |     | 620 |     |     |     |     |  |  |
| Cys | Thr | Glu | Asn | Asp | Tyr | Lys | Leu | Trp | Ser | Pro | Ser | Asp | Glu | Arg | Gly |  |  |
| 625 |     |     |     |     | 630 |     |     |     |     | 635 |     |     |     |     | 640 |  |  |
| Asn | Glu | Cys | Leu | Leu | Gly | His | Lys | Thr | Val | Phe | Lys | Arg | Arg | Thr | Pro |  |  |
|     |     |     | 645 |     |     |     |     |     | 650 |     |     |     |     | 655 |     |  |  |
| His | Ala | Thr | Cys | Phe | Asn | Gly | Glu | Asp | Phe | Asp | Arg | Pro | Val | Val | Val |  |  |
|     |     |     | 660 |     |     |     |     | 665 |     |     |     |     | 670 |     |     |  |  |
| Ser | Asn | Cys | Ser | Cys | Thr | Arg | Glu | Asp | Tyr | Glu | Cys | Asp | Phe | Gly | Phe |  |  |

# ES 2 680 222 T3

| 675 |     |     |     |     | 680 |     |     |     |     | 685 |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Lys | Met | Ser | Glu | Asp | Leu | Ser | Leu | Glu | Val | Cys | Val | Pro | Asp | Pro | Glu |
| 690 |     |     |     |     |     | 695 |     |     |     |     | 700 |     |     |     |     |
| Phe | Ser | Gly | Lys | Ser | Tyr | Ser | Pro | Pro | Val | Pro | Cys | Pro | Val | Gly | Ser |
| 705 |     |     |     |     | 710 |     |     |     |     | 715 |     |     |     |     | 720 |
| Thr | Tyr | Arg | Arg | Thr | Arg | Gly | Tyr | Arg | Lys | Ile | Ser | Gly | Asp | Thr | Cys |
|     |     |     |     | 725 |     |     |     |     | 730 |     |     |     |     | 735 |     |
| Ser | Gly | Gly | Asp | Val | Glu | Ala | Arg | Leu | Glu | Gly | Glu | Leu | Val | Pro | Cys |
|     |     |     | 740 |     |     |     |     | 745 |     |     |     |     | 750 |     |     |
| Pro | Leu | Ala | Glu | Glu | Asn | Glu | Phe | Ile | Leu | Tyr | Ala | Val | Arg | Lys | Ser |
|     |     | 755 |     |     |     |     | 760 |     |     |     |     | 765 |     |     |     |
| Ile | Tyr | Arg | Tyr | Asp | Leu | Ala | Ser | Gly | Ala | Thr | Glu | Gln | Leu | Pro | Leu |
|     | 770 |     |     |     |     | 775 |     |     |     |     | 780 |     |     |     |     |
| Thr | Gly | Leu | Arg | Ala | Ala | Val | Ala | Leu | Asp | Phe | Asp | Tyr | Glu | His | Asn |
| 785 |     |     |     |     | 790 |     |     |     |     | 795 |     |     |     |     | 800 |
| Cys | Leu | Tyr | Trp | Ser | Asp | Leu | Ala | Leu | Asp | Val | Ile | Gln | Arg | Leu | Cys |
|     |     |     |     | 805 |     |     |     |     | 810 |     |     |     |     | 815 |     |
| Leu | Asn | Gly | Ser | Thr | Gly | Gln | Glu | Val | Ile | Ile | Asn | Ser | Gly | Leu | Glu |
|     |     |     | 820 |     |     |     |     | 825 |     |     |     |     | 830 |     |     |
| Thr | Val | Glu | Ala | Leu | Ala | Phe | Glu | Pro | Leu | Ser | Gln | Leu | Leu | Tyr | Trp |
|     |     | 835 |     |     |     |     | 840 |     |     |     |     | 845 |     |     |     |
| Val | Asp | Ala | Gly | Phe | Lys | Lys | Ile | Glu | Val | Ala | Asn | Pro | Asp | Gly | Asp |
|     | 850 |     |     |     |     | 855 |     |     |     |     | 860 |     |     |     |     |
| Phe | Arg | Leu | Thr | Ile | Val | Asn | Ser | Ser | Val | Leu | Asp | Arg | Pro | Arg | Ala |
| 865 |     |     |     |     | 870 |     |     |     |     | 875 |     |     |     |     | 880 |
| Leu | Val | Leu | Val | Pro | Gln | Glu | Gly | Val | Met | Phe | Trp | Thr | Asp | Trp | Gly |
|     |     |     |     | 885 |     |     |     | 890 |     |     |     |     |     | 895 |     |
| Asp | Leu | Lys | Pro | Gly | Ile | Tyr | Arg | Ser | Asn | Met | Asp | Gly | Ser | Ala | Ala |
|     |     |     | 900 |     |     |     |     | 905 |     |     |     |     | 910 |     |     |
| Tyr | His | Leu | Val | Ser | Glu | Asp | Val | Lys | Trp | Pro | Asn | Gly | Ile | Ser | Val |
|     |     | 915 |     |     |     |     | 920 |     |     |     |     | 925 |     |     |     |

# ES 2 680 222 T3

|      |     |     |     |     |     |      |      |     |     |     |      |      |     |     |     |
|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|-----|-----|-----|------|------|-----|-----|-----|
| Asp  | Asp | Gln | Trp | Ile | Tyr | Trp  | Thr  | Asp | Ala | Tyr | Leu  | Glu  | Cys | Ile | Glu |
| 930  |     |     |     |     |     | 935  |      |     |     |     | 940  |      |     |     |     |
| Arg  | Ile | Thr | Phe | Ser | Gly | Gln  | Gln  | Arg | Ser | Val | Ile  | Leu  | Asp | Asn | Leu |
| 945  |     |     |     |     | 950 |      |      |     |     | 955 |      |      |     |     | 960 |
| Pro  | His | Pro | Tyr | Ala | Ile | Ala  | Val  | Phe | Lys | Asn | Glu  | Ile  | Tyr | Trp | Asp |
|      |     |     |     | 965 |     |      |      |     | 970 |     |      |      |     | 975 |     |
| Asp  | Trp | Ser | Gln | Leu | Ser | Ile  | Phe  | Arg | Ala | Ser | Lys  | Tyr  | Ser | Gly | Ser |
|      |     |     | 980 |     |     |      |      | 985 |     |     |      |      |     | 990 |     |
| Gln  | Met | Glu | Ile | Leu | Ala | Asn  | Gln  | Leu | Thr | Gly | Leu  | Met  | Asp | Met | Lys |
|      | 995 |     |     |     |     |      | 1000 |     |     |     |      | 1005 |     |     |     |
| Ile  | Phe | Tyr | Lys | Gly | Lys | Asn  | Thr  | Gly | Ser | Asn | Ala  | Cys  | Val | Pro |     |
| 1010 |     |     |     |     |     | 1015 |      |     |     |     | 1020 |      |     |     |     |
| Arg  | Pro | Cys | Ser | Leu | Leu | Cys  | Leu  | Pro | Lys | Ala | Asn  | Asn  | Ser | Arg |     |
| 1025 |     |     |     |     |     | 1030 |      |     |     |     | 1035 |      |     |     |     |
| Ser  | Cys | Arg | Cys | Pro | Glu | Asp  | Val  | Ser | Ser | Ser | Val  | Leu  | Pro | Ser |     |
| 1040 |     |     |     |     |     | 1045 |      |     |     |     | 1050 |      |     |     |     |
| Gly  | Asp | Leu | Met | Cys | Asp | Cys  | Pro  | Gln | Gly | Tyr | Gln  | Leu  | Lys | Asn |     |
| 1055 |     |     |     |     |     | 1060 |      |     |     |     | 1065 |      |     |     |     |
| Asn  | Thr | Cys | Val | Lys | Glu | Glu  | Asn  | Thr | Cys | Leu | Arg  | Asn  | Gln | Tyr |     |
| 1070 |     |     |     |     |     | 1075 |      |     |     |     | 1080 |      |     |     |     |
| Arg  | Cys | Ser | Asn | Gly | Asn | Cys  | Ile  | Asn | Ser | Ile | Trp  | Trp  | Cys | Asp |     |
| 1085 |     |     |     |     |     | 1090 |      |     |     |     | 1095 |      |     |     |     |
| Phe  | Asp | Asn | Asp | Cys | Gly | Asp  | Met  | Ser | Asp | Glu | Arg  | Asn  | Cys | Pro |     |
| 1100 |     |     |     |     |     | 1105 |      |     |     |     | 1110 |      |     |     |     |
| Thr  | Thr | Ile | Cys | Asp | Leu | Asp  | Thr  | Gln | Phe | Arg | Cys  | Gln  | Glu | Ser |     |
| 1115 |     |     |     |     |     | 1120 |      |     |     |     | 1125 |      |     |     |     |
| Gly  | Thr | Cys | Ile | Pro | Leu | Ser  | Tyr  | Lys | Cys | Asp | Leu  | Glu  | Asp | Asp |     |
| 1130 |     |     |     |     |     | 1135 |      |     |     |     | 1140 |      |     |     |     |
| Cys  | Gly | Asp | Asn | Ser | Asp | Glu  | Ser  | His | Cys | Glu | Met  | His  | Gln | Cys |     |
| 1145 |     |     |     |     |     | 1150 |      |     |     |     | 1155 |      |     |     |     |
| Arg  | Ser | Asp | Glu | Tyr | Asn | Cys  | Ser  | Ser | Gly | Met | Cys  | Ile  | Arg | Ser |     |
| 1160 |     |     |     |     |     | 1165 |      |     |     |     | 1170 |      |     |     |     |

# ES 2 680 222 T3

|                             |                     |             |
|-----------------------------|---------------------|-------------|
| Ser Trp Val Cys Asp Gly Asp | Asn Asp Cys Arg Asp | Trp Ser Asp |
| 1175                        | 1180                | 1185        |
| Glu Ala Asn Cys Thr Ala Ile | Tyr His Thr Cys Glu | Ala Ser Asn |
| 1190                        | 1195                | 1200        |
| Phe Gln Cys Arg Asn Gly His | Cys Ile Pro Gln Arg | Trp Ala Cys |
| 1205                        | 1210                | 1215        |
| Asp Gly Asp Thr Asp Cys Gln | Asp Gly Ser Asp Glu | Asp Pro Val |
| 1220                        | 1225                | 1230        |
| Asn Cys Glu Lys Lys Cys Asn | Gly Phe Arg Cys Pro | Asn Gly Thr |
| 1235                        | 1240                | 1245        |
| Cys Ile Pro Ser Ser Lys His | Cys Asp Gly Leu Arg | Asp Cys Ser |
| 1250                        | 1255                | 1260        |
| Asp Gly Ser Asp Glu Gln His | Cys Glu Pro Leu Cys | Thr His Phe |
| 1265                        | 1270                | 1275        |
| Met Asp Phe Val Cys Lys Asn | Arg Gln Gln Cys Leu | Phe His Ser |
| 1280                        | 1285                | 1290        |
| Met Val Cys Asp Gly Ile Ile | Gln Cys Arg Asp Gly | Ser Asp Glu |
| 1295                        | 1300                | 1305        |
| Asp Ala Ala Phe Ala Gly Cys | Ser Gln Asp Pro Glu | Phe His Lys |
| 1310                        | 1315                | 1320        |
| Val Cys Asp Glu Phe Gly Phe | Gln Cys Gln Asn Gly | Val Cys Ile |
| 1325                        | 1330                | 1335        |
| Ser Leu Ile Trp Lys Cys Asp | Gly Met Asp Asp Cys | Gly Asp Tyr |
| 1340                        | 1345                | 1350        |
| Ser Asp Glu Ala Asn Cys Glu | Asn Pro Thr Glu Ala | Pro Asn Cys |
| 1355                        | 1360                | 1365        |
| Ser Arg Tyr Phe Gln Phe Arg | Cys Glu Asn Gly His | Cys Ile Pro |
| 1370                        | 1375                | 1380        |
| Asn Arg Trp Lys Cys Asp Arg | Glu Asn Asp Cys Gly | Asp Trp Ser |
| 1385                        | 1390                | 1395        |
| Asp Glu Lys Asp Cys Gly Asp | Ser His Ile Leu Pro | Phe Ser Thr |
| 1400                        | 1405                | 1410        |

# ES 2 680 222 T3

|                 |                             |                                 |             |
|-----------------|-----------------------------|---------------------------------|-------------|
| Pro Gly<br>1415 | Pro Ser Thr Cys<br>1420     | Leu Pro Asn Tyr Tyr Arg<br>1425 | Cys Ser Ser |
| Gly Thr<br>1430 | Cys Val Met Asp Thr<br>1435 | Trp Val Cys Asp Gly<br>1440     | Tyr Arg Asp |
| Cys Ala<br>1445 | Asp Gly Ser Asp Glu<br>1450 | Glu Ala Cys Pro Leu<br>1455     | Leu Ala Asn |
| Val Thr<br>1460 | Ala Ala Ser Thr Pro<br>1465 | Thr Gln Leu Gly Arg<br>1470     | Cys Asp Arg |
| Phe Glu<br>1475 | Phe Glu Cys His Gln<br>1480 | Pro Lys Thr Cys Ile<br>1485     | Pro Asn Trp |
| Lys Arg<br>1490 | Cys Asp Gly His Gln<br>1495 | Asp Cys Gln Asp Gly<br>1500     | Arg Asp Glu |
| Ala Asn<br>1505 | Cys Pro Thr His Ser<br>1510 | Thr Leu Thr Cys Met<br>1515     | Ser Arg Glu |
| Phe Gln<br>1520 | Cys Glu Asp Gly Glu<br>1525 | Ala Cys Ile Val Leu<br>1530     | Ser Glu Arg |
| Cys Asp<br>1535 | Gly Phe Leu Asp Cys<br>1540 | Ser Asp Glu Ser Asp<br>1545     | Glu Lys Ala |
| Cys Ser<br>1550 | Asp Glu Leu Thr Val<br>1555 | Tyr Lys Val Gln Asn<br>1560     | Leu Gln Trp |
| Thr Ala<br>1565 | Asp Phe Ser Gly Asp<br>1570 | Val Thr Leu Thr Trp<br>1575     | Met Arg Pro |
| Lys Lys<br>1580 | Met Pro Ser Ala Ser<br>1585 | Cys Val Tyr Asn Val<br>1590     | Tyr Tyr Arg |
| Val Val<br>1595 | Gly Glu Ser Ile Trp<br>1600 | Lys Thr Leu Glu Thr<br>1605     | His Ser Asn |
| Lys Thr<br>1610 | Asn Thr Val Leu Lys<br>1615 | Val Leu Lys Pro Asp<br>1620     | Thr Thr Tyr |
| Gln Val<br>1625 | Lys Val Gln Val Gln<br>1630 | Cys Leu Ser Lys Ala<br>1635     | His Asn Thr |
| Asn Asp         | Phe Val Thr Leu Arg         | Thr Pro Glu Gly Leu             | Pro Asp Ala |

# ES 2 680 222 T3

|         |                     |                     |             |      |
|---------|---------------------|---------------------|-------------|------|
| 1640    |                     | 1645                |             | 1650 |
| Pro Arg | Asn Leu Gln Leu Ser | Leu Pro Arg Glu Ala | Glu Gly Val |      |
| 1655    | 1660                | 1665                |             |      |
| Ile Val | Gly His Trp Ala Pro | Pro Ile His Thr His | Gly Leu Ile |      |
| 1670    | 1675                | 1680                |             |      |
| Arg Glu | Tyr Ile Val Glu Tyr | Ser Arg Ser Gly Ser | Lys Met Trp |      |
| 1685    | 1690                | 1695                |             |      |
| Ala Ser | Gln Arg Ala Ala Ser | Asn Phe Thr Glu Ile | Lys Asn Leu |      |
| 1700    | 1705                | 1710                |             |      |
| Leu Val | Asn Thr Leu Tyr Thr | Val Arg Val Ala Ala | Val Thr Ser |      |
| 1715    | 1720                | 1725                |             |      |
| Arg Gly | Ile Gly Asn Trp Ser | Asp Ser Lys Ser Ile | Thr Thr Ile |      |
| 1730    | 1735                | 1740                |             |      |
| Lys Gly | Lys Val Ile Pro Pro | Pro Asp Ile His Ile | Asp Ser Tyr |      |
| 1745    | 1750                | 1755                |             |      |
| Gly Glu | Asn Tyr Leu Ser Phe | Thr Leu Thr Met Glu | Ser Asp Ile |      |
| 1760    | 1765                | 1770                |             |      |
| Lys Val | Asn Gly Tyr Val Val | Asn Leu Phe Trp Ala | Phe Asp Thr |      |
| 1775    | 1780                | 1785                |             |      |
| His Lys | Gln Glu Arg Arg Thr | Leu Asn Phe Arg Gly | Ser Ile Leu |      |
| 1790    | 1795                | 1800                |             |      |
| Ser His | Lys Val Gly Asn Leu | Thr Ala His Thr Ser | Tyr Glu Ile |      |
| 1805    | 1810                | 1815                |             |      |
| Ser Ala | Trp Ala Lys Thr Asp | Leu Gly Asp Ser Pro | Leu Ala Phe |      |
| 1820    | 1825                | 1830                |             |      |
| Glu His | Val Met Thr Arg Gly | Val Arg Pro Pro Ala | Pro Ser Leu |      |
| 1835    | 1840                | 1845                |             |      |
| Lys Ala | Lys Ala Ile Asn Gln | Thr Ala Val Glu Cys | Thr Trp Thr |      |
| 1850    | 1855                | 1860                |             |      |
| Gly Pro | Arg Asn Val Val Tyr | Gly Ile Phe Tyr Ala | Thr Ser Phe |      |
| 1865    | 1870                | 1875                |             |      |

# ES 2 680 222 T3

|                 |                             |                             |             |
|-----------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------|
| Leu Asp<br>1880 | Leu Tyr Arg Asn Pro<br>1885 | Lys Ser Leu Thr Thr<br>1890 | Ser Leu His |
| Asn Lys<br>1895 | Thr Val Ile Val Ser<br>1900 | Lys Asp Glu Gln Tyr<br>1905 | Leu Phe Leu |
| Val Arg<br>1910 | Val Val Val Pro Tyr<br>1915 | Gln Gly Pro Ser Ser<br>1920 | Asp Tyr Val |
| Val Val<br>1925 | Lys Met Ile Pro Asp<br>1930 | Ser Arg Leu Pro Pro<br>1935 | Arg His Leu |
| His Val<br>1940 | Val His Thr Gly Lys<br>1945 | Thr Ser Val Val Ile<br>1950 | Lys Trp Glu |
| Ser Pro<br>1955 | Tyr Asp Ser Pro Asp<br>1960 | Gln Asp Leu Leu Tyr<br>1965 | Ala Ile Ala |
| Val Lys<br>1970 | Asp Leu Ile Arg Lys<br>1975 | Thr Asp Arg Ser Tyr<br>1980 | Lys Val Lys |
| Ser Arg<br>1985 | Asn Ser Thr Val Glu<br>1990 | Tyr Thr Leu Asn Lys<br>1995 | Leu Glu Pro |
| Gly Gly<br>2000 | Lys Tyr His Ile Ile<br>2005 | Val Gln Leu Gly Asn<br>2010 | Met Ser Lys |
| Asp Ser<br>2015 | Ser Ile Lys Ile Thr<br>2020 | Thr Val Ser Leu Ser<br>2025 | Ala Pro Asp |
| Ala Leu<br>2030 | Lys Ile Ile Thr Glu<br>2035 | Asn Asp His Val Leu<br>2040 | Leu Phe Trp |
| Lys Ser<br>2045 | Leu Ala Leu Lys Glu<br>2050 | Lys His Phe Asn Glu<br>2055 | Ser Arg Gly |
| Tyr Glu<br>2060 | Ile His Met Phe Asp<br>2065 | Ser Ala Met Asn Ile<br>2070 | Thr Ala Tyr |
| Leu Gly<br>2075 | Asn Thr Thr Asp Asn<br>2080 | Phe Phe Lys Ile Ser<br>2085 | Asn Leu Lys |
| Met Gly<br>2090 | His Asn Tyr Thr Phe<br>2095 | Thr Val Gln Ala Arg<br>2100 | Cys Leu Phe |
| Gly Asn<br>2105 | Gln Ile Cys Gly Glu<br>2110 | Pro Ala Ile Leu Leu<br>2115 | Tyr Asp Glu |

# ES 2 680 222 T3

Leu Gly Ser Gly Ala Asp Ala Ser Ala Thr Gln Ala Ala Arg Ser  
2120 2125 2130

Thr Asp Val Ala Ala Val Val Val Pro Ile Leu Phe Leu Ile Leu  
2135 2140 2145

Leu Ser Leu Gly Val Gly Phe Ala Ile Leu Tyr Thr Lys His Arg  
2150 2155 2160

Arg Leu Gln Ser Ser Phe Thr Ala Phe Ala Asn Ser His Tyr Ser  
2165 2170 2175

Ser Arg Leu Gly Ser Ala Ile Phe Ser Ser Gly Asp Asp Leu Gly  
2180 2185 2190

Glu Asp Asp Glu Asp Ala Pro Met Ile Thr Gly Phe Ser Asp Asp  
2195 2200 2205

Val Pro Met Val Ile Ala  
2210

<210> 3

<211> 1168

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 3

Met Gly Lys Val Gly Ala Gly Gly Gly Ser Gln Ala Arg Leu Ser Ala  
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gly Ala Gly Leu Leu Ile Leu Cys Ala Pro Gly Val Cys  
20 25 30

Gly Gly Gly Ser Cys Cys Pro Ser Pro His Pro Ser Ser Ala Pro Arg  
35 40 45

Ser Ala Ser Thr Pro Arg Gly Phe Ser His Gln Gly Arg Pro Gly Arg  
50 55 60

Ala Pro Ala Thr Pro Leu Pro Leu Val Val Arg Pro Leu Phe Ser Val  
65 70 75 80

Ala Pro Gly Asp Arg Ala Leu Ser Leu Glu Arg Ala Arg Gly Thr Gly  
85 90 95

Ala Ser Met Ala Val Ala Ala Arg Ser Gly Arg Arg Arg Arg Ser Gly  
100 105 110

5

10

# ES 2 680 222 T3

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Asp | Gln | Glu | Lys | Ala | Glu | Arg | Gly | Glu | Gly | Ala | Ser | Arg | Ser | Pro | 115 | 120 | 125 |
| Arg | Gly | Val | Leu | Arg | Asp | Gly | Gly | Gln | Gln | Glu | Pro | Gly | Thr | Arg | Glu | 130 | 135 | 140 |
| Arg | Asp | Pro | Asp | Lys | Ala | Thr | Arg | Phe | Arg | Met | Glu | Glu | Leu | Arg | Leu | 145 | 150 | 155 |
| Thr | Ser | Thr | Thr | Phe | Ala | Leu | Thr | Gly | Asp | Ser | Ala | His | Asn | Gln | Ala | 165 | 170 | 175 |
| Met | Val | His | Trp | Ser | Gly | His | Asn | Ser | Ser | Val | Ile | Leu | Ile | Leu | Thr | 180 | 185 | 190 |
| Lys | Leu | Tyr | Asp | Tyr | Asn | Leu | Gly | Ser | Ile | Thr | Glu | Ser | Ser | Leu | Trp | 195 | 200 | 205 |
| Arg | Ser | Thr | Asp | Tyr | Gly | Thr | Thr | Tyr | Glu | Lys | Leu | Asn | Asp | Lys | Val | 210 | 215 | 220 |
| Gly | Leu | Lys | Thr | Ile | Leu | Gly | Tyr | Leu | Tyr | Val | Cys | Pro | Thr | Asn | Lys | 225 | 230 | 235 |
| Arg | Lys | Ile | Met | Leu | Leu | Thr | Asp | Pro | Glu | Ile | Glu | Ser | Ser | Leu | Leu | 245 | 250 | 255 |
| Ile | Ser | Ser | Asp | Glu | Gly | Ala | Thr | Tyr | Gln | Lys | Tyr | Arg | Leu | Asn | Phe | 260 | 265 | 270 |
| Tyr | Ile | Gln | Ser | Leu | Leu | Phe | His | Pro | Lys | Gln | Glu | Asp | Trp | Ile | Leu | 275 | 280 | 285 |
| Ala | Tyr | Ser | Gln | Asp | Gln | Lys | Leu | Tyr | Ser | Ser | Ala | Glu | Phe | Gly | Arg | 290 | 295 | 300 |
| Arg | Trp | Gln | Leu | Ile | Gln | Glu | Gly | Val | Val | Pro | Asn | Arg | Phe | Tyr | Trp | 305 | 310 | 315 |
| Ser | Val | Met | Gly | Ser | Asn | Lys | Glu | Pro | Asp | Leu | Val | His | Leu | Glu | Ala | 325 | 330 | 335 |
| Arg | Thr | Val | Asp | Gly | His | Ser | His | Tyr | Leu | Thr | Cys | Arg | Met | Gln | Asn | 340 | 345 | 350 |
| Cys | Thr | Glu | Ala | Asn | Arg | Asn | Gln | Pro | Phe | Pro | Gly | Tyr | Ile | Asp | Pro | 355 | 360 | 365 |

# ES 2 680 222 T3

Asp Ser Leu Ile Val Gln Asp His Tyr Val Phe Val Gln Leu Thr Ser  
 370 375 380  
 Gly Gly Arg Pro His Tyr Tyr Val Ser Tyr Arg Arg Asn Ala Phe Ala  
 385 390 395 400  
 Gln Met Lys Leu Pro Lys Tyr Ala Leu Pro Lys Asp Met His Val Ile  
 405 410 415  
 Ser Thr Asp Glu Asn Gln Val Phe Ala Ala Val Gln Glu Trp Asn Gln  
 420 425 430  
 Asn Asp Thr Tyr Asn Leu Tyr Ile Ser Asp Thr Arg Gly Val Tyr Phe  
 435 440 445  
 Thr Leu Ala Leu Glu Asn Val Gln Ser Ser Arg Gly Pro Glu Gly Asn  
 450 455 460  
 Ile Met Ile Asp Leu Tyr Glu Val Ala Gly Ile Lys Gly Met Phe Leu  
 465 470 475 480  
 Ala Asn Lys Lys Ile Asp Tyr Gln Val Lys Thr Phe Ile Thr Tyr Asn  
 485 490 495  
 Lys Gly Arg Asp Trp Arg Leu Leu Gln Ala Pro Asp Thr Asp Leu Arg  
 500 505 510  
 Gly Asp Pro Val His Cys Leu Leu Pro Tyr Cys Ser Leu His Leu His  
 515 520 525  
 Leu Lys Val Ser Glu Asn Pro Tyr Thr Ser Gly Ile Ile Ala Ser Lys  
 530 535 540  
 Asp Thr Ala Pro Ser Ile Ile Val Ala Ser Gly Asn Ile Gly Ser Glu  
 545 550 555 560  
 Leu Ser Asp Thr Asp Ile Ser Met Phe Val Ser Ser Asp Ala Gly Asn  
 565 570 575  
 Thr Trp Arg Gln Ile Phe Glu Glu Glu His Ser Val Leu Tyr Leu Asp  
 580 585 590  
 Gln Gly Gly Val Leu Val Ala Met Lys His Thr Ser Leu Pro Ile Arg  
 595 600 605  
 His Leu Trp Leu Ser Phe Asp Glu Gly Arg Ser Trp Ser Lys Tyr Ser

# ES 2 680 222 T3

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| 610 |     |     |     |     |     | 615 |     |     |     |     |     | 620 |     |     |     |  |  |
| Phe | Thr | Ser | Ile | Pro | Leu | Phe | Val | Asp | Gly | Val | Leu | Gly | Glu | Pro | Gly |  |  |
| 625 |     |     |     |     | 630 |     |     |     |     | 635 |     |     |     |     | 640 |  |  |
| Glu | Glu | Thr | Leu | Ile | Met | Thr | Val | Phe | Gly | His | Phe | Ser | His | Arg | Ser |  |  |
|     |     |     |     | 645 |     |     |     |     | 650 |     |     |     |     | 655 |     |  |  |
| Glu | Trp | Gln | Leu | Val | Lys | Val | Asp | Tyr | Lys | Ser | Ile | Phe | Asp | Arg | Arg |  |  |
|     |     |     | 660 |     |     |     |     | 665 |     |     |     |     | 670 |     |     |  |  |
| Cys | Ala | Glu | Glu | Asp | Tyr | Arg | Pro | Trp | Gln | Leu | His | Ser | Gln | Gly | Glu |  |  |
|     |     | 675 |     |     |     |     | 680 |     |     |     |     | 685 |     |     |     |  |  |
| Ala | Cys | Ile | Met | Gly | Ala | Lys | Arg | Ile | Tyr | Lys | Lys | Arg | Lys | Ser | Glu |  |  |
| 690 |     |     |     |     |     | 695 |     |     |     |     | 700 |     |     |     |     |  |  |
| Arg | Lys | Cys | Met | Gln | Gly | Lys | Tyr | Ala | Gly | Ala | Met | Glu | Ser | Glu | Pro |  |  |
| 705 |     |     |     | 710 |     |     |     |     | 715 |     |     |     |     |     | 720 |  |  |
| Cys | Val | Cys | Thr | Glu | Ala | Asp | Phe | Asp | Cys | Asp | Tyr | Gly | Tyr | Glu | Arg |  |  |
|     |     |     |     | 725 |     |     |     |     | 730 |     |     |     |     | 735 |     |  |  |
| His | Ser | Asn | Gly | Gln | Cys | Leu | Pro | Ala | Phe | Trp | Phe | Asn | Pro | Ser | Ser |  |  |
|     |     |     | 740 |     |     |     |     | 745 |     |     |     |     | 750 |     |     |  |  |
| Leu | Ser | Lys | Asp | Cys | Ser | Leu | Gly | Gln | Ser | Tyr | Leu | Asn | Ser | Thr | Gly |  |  |
|     |     | 755 |     |     |     |     | 760 |     |     |     |     | 765 |     |     |     |  |  |
| Tyr | Arg | Lys | Val | Val | Ser | Asn | Asn | Cys | Thr | Asp | Gly | Val | Arg | Glu | Gln |  |  |
| 770 |     |     |     |     |     | 775 |     |     |     |     | 780 |     |     |     |     |  |  |
| Tyr | Thr | Ala | Lys | Pro | Gln | Lys | Cys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Arg | Gly | Leu |  |  |
| 785 |     |     |     |     | 790 |     |     |     | 795 |     |     |     |     |     | 800 |  |  |
| Arg | Ile | Val | Thr | Ala | Asp | Gly | Lys | Leu | Thr | Ala | Glu | Gln | Gly | His | Asn |  |  |
|     |     |     |     | 805 |     |     |     | 810 |     |     |     |     |     | 815 |     |  |  |
| Val | Thr | Leu | Met | Val | Gln | Leu | Glu | Glu | Gly | Asp | Val | Gln | Arg | Thr | Leu |  |  |
|     |     |     | 820 |     |     |     |     | 825 |     |     |     |     | 830 |     |     |  |  |
| Ile | Gln | Val | Asp | Phe | Gly | Asp | Gly | Ile | Ala | Val | Ser | Tyr | Val | Asn | Leu |  |  |
|     |     | 835 |     |     |     |     | 840 |     |     |     |     | 845 |     |     |     |  |  |
| Ser | Ser | Met | Glu | Asp | Gly | Ile | Lys | His | Val | Tyr | Gln | Asn | Val | Gly | Ile |  |  |
| 850 |     |     |     |     |     | 855 |     |     |     |     | 860 |     |     |     |     |  |  |

# ES 2 680 222 T3

Phe Arg Val Thr Val Gln Val Asp Asn Ser Leu Gly Ser Asp Ser Ala  
 865 870 875 880  
 Val Leu Tyr Leu His Val Thr Cys Pro Leu Glu His Val His Leu Ser  
 885 890 895  
 Leu Pro Phe Val Thr Thr Lys Asn Lys Glu Val Asn Ala Thr Ala Val  
 900 905 910  
 Leu Trp Pro Ser Gln Val Gly Thr Leu Thr Tyr Val Trp Trp Tyr Gly  
 915 920 925  
 Asn Asn Thr Glu Pro Leu Ile Thr Leu Glu Gly Ser Ile Ser Phe Arg  
 930 935 940  
 Phe Thr Ser Glu Gly Met Asn Thr Ile Thr Val Gln Val Ser Ala Gly  
 945 950 955 960  
 Asn Ala Ile Leu Gln Asp Thr Lys Thr Ile Ala Val Tyr Glu Glu Phe  
 965 970 975  
 Arg Ser Leu Arg Leu Ser Phe Ser Pro Asn Leu Asp Asp Tyr Asn Pro  
 980 985 990  
 Asp Ile Pro Glu Trp Arg Arg Asp Ile Gly Arg Val Ile Lys Lys Ser  
 995 1000 1005  
 Leu Val Glu Ala Thr Gly Val Pro Gly Gln His Ile Leu Val Ala  
 1010 1015 1020  
 Val Leu Pro Gly Leu Pro Thr Thr Ala Glu Leu Phe Val Leu Pro  
 1025 1030 1035  
 Tyr Gln Asp Pro Ala Gly Glu Asn Lys Arg Ser Thr Asp Asp Leu  
 1040 1045 1050  
 Glu Gln Ile Ser Glu Leu Leu Ile His Thr Leu Asn Gln Asn Ser  
 1055 1060 1065  
 Val His Phe Glu Leu Lys Pro Gly Val Arg Val Leu Val His Ala  
 1070 1075 1080  
 Ala His Leu Thr Ala Ala Pro Leu Val Asp Leu Thr Pro Thr His  
 1085 1090 1095  
 Ser Gly Ser Ala Met Leu Met Leu Leu Ser Val Val Phe Val Gly  
 1100 1105 1110

# ES 2 680 222 T3

Leu Ala Val Phe Val Ile Tyr Lys Phe Lys Arg Arg Val Ala Leu  
1115 1120 1125

Pro Ser Pro Pro Ser Pro Ser Thr Gln Pro Gly Asp Ser Ser Leu  
1130 1135 1140

Arg Leu Gln Arg Ala Arg His Ala Thr Pro Pro Ser Thr Pro Lys  
1145 1150 1155

Arg Gly Ser Ala Gly Ala Gln Tyr Ala Ile  
1160 1165

<210> 4

<211> 907

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 4

Leu Ile Phe His Pro Lys Glu Glu Asp Lys Val Leu Ala Tyr Thr Lys  
1 5 10 15

Glu Ser Lys Leu Tyr Val Ser Ser Asp Leu Gly Lys Lys Trp Thr Leu  
20 25 30

Leu Gln Glu Arg Val Thr Lys Asp His Val Phe Trp Ser Val Ser Gly  
35 40 45

Val Asp Ala Asp Pro Asp Leu Val His Val Glu Ala Gln Asp Leu Gly  
50 55 60

Gly Asp Phe Arg Tyr Val Thr Cys Ala Ile His Asn Cys Ser Glu Lys  
65 70 75 80

Met Leu Thr Ala Pro Phe Ala Gly Pro Ile Asp His Gly Ser Leu Thr  
85 90 95

Val Gln Asp Asp Tyr Ile Phe Phe Lys Ala Thr Ser Ala Asn Gln Thr  
100 105 110

Lys Tyr Tyr Val Ser Tyr Arg Arg Asn Glu Phe Val Leu Met Lys Leu  
115 120 125

Pro Lys Tyr Ala Leu Pro Lys Asp Leu Gln Ile Ile Ser Thr Asp Glu  
130 135 140

Ser Gln Val Phe Val Ala Val Gln Glu Trp Tyr Gln Met Asp Thr Tyr  
145 150 155 160

5

10

# ES 2 680 222 T3

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asn | Leu | Tyr | Gln | Ser | Asp | Pro | Arg | Gly | Val | Arg | Tyr | Ala | Leu | Val | Leu | 165 | 170 | 175 |     |
| Gln | Asp | Val | Arg | Ser | Ser | Arg | Gln | Ala | Glu | Glu | Ser | Val | Leu | Ile | Asp | 180 | 185 | 190 |     |
| Ile | Leu | Glu | Val | Arg | Gly | Val | Lys | Gly | Val | Phe | Leu | Ala | Asn | Gln | Lys | 195 | 200 | 205 |     |
| Ile | Asp | Gly | Lys | Val | Met | Thr | Leu | Ile | Thr | Tyr | Asn | Lys | Gly | Arg | Asp | 210 | 215 | 220 |     |
| Trp | Asp | Tyr | Leu | Arg | Pro | Pro | Ser | Met | Asp | Met | Asn | Gly | Lys | Pro | Thr | 225 | 230 | 235 | 240 |
| Asn | Cys | Lys | Pro | Pro | Asp | Cys | His | Leu | His | Leu | His | Leu | Arg | Trp | Ala | 245 | 250 | 255 |     |
| Asp | Asn | Pro | Tyr | Val | Ser | Gly | Thr | Val | His | Thr | Lys | Asp | Thr | Ala | Pro | 260 | 265 | 270 |     |
| Gly | Leu | Ile | Met | Gly | Ala | Gly | Asn | Leu | Gly | Ser | Gln | Leu | Val | Glu | Tyr | 275 | 280 | 285 |     |
| Lys | Glu | Glu | Met | Tyr | Ile | Thr | Ser | Asp | Cys | Gly | His | Thr | Trp | Arg | Gln | 290 | 295 | 300 |     |
| Val | Phe | Glu | Glu | Glu | His | His | Ile | Leu | Tyr | Leu | Asp | His | Gly | Gly | Val | 305 | 310 | 315 | 320 |
| Ile | Val | Ala | Ile | Lys | Asp | Thr | Ser | Ile | Pro | Leu | Lys | Ile | Leu | Lys | Phe | 325 | 330 | 335 |     |
| Ser | Val | Asp | Glu | Gly | Leu | Thr | Trp | Ser | Thr | His | Asn | Phe | Thr | Ser | Thr | 340 | 345 | 350 |     |
| Ser | Val | Phe | Val | Asp | Gly | Leu | Leu | Ser | Glu | Pro | Gly | Asp | Glu | Thr | Leu | 355 | 360 | 365 |     |
| Val | Met | Thr | Val | Phe | Gly | His | Ile | Ser | Phe | Arg | Ser | Asp | Trp | Glu | Leu | 370 | 375 | 380 |     |
| Val | Lys | Val | Asp | Phe | Arg | Pro | Ser | Phe | Ser | Arg | Gln | Cys | Gly | Glu | Glu | 385 | 390 | 395 | 400 |
| Asp | Tyr | Ser | Ser | Trp | Glu | Leu | Ser | Asn | Leu | Gln | Gly | Asp | Arg | Cys | Ile | 405 | 410 | 415 |     |

# ES 2 680 222 T3

Met Gly Gln Gln Arg Ser Phe Arg Lys Arg Lys Ser Thr Ser Trp Cys  
420 425 430

Ile Lys Gly Arg Ser Phe Thr Ser Ala Leu Thr Ser Arg Val Cys Glu  
435 440 445

Cys Arg Asp Ser Asp Phe Leu Cys Asp Tyr Gly Phe Glu Arg Ser Pro  
450 455 460

Ser Ser Glu Ser Ser Thr Asn Lys Cys Ser Ala Asn Phe Trp Phe Asn  
465 470 475 480

Pro Leu Ser Pro Pro Asp Asp Cys Ala Leu Gly Gln Thr Tyr Thr Ser  
485 490 495

Ser Leu Gly Tyr Arg Lys Val Val Ser Asn Val Cys Glu Gly Gly Val  
500 505 510

Asp Met Gln Gln Ser Gln Val Gln Leu Gln Cys Pro Leu Thr Pro Pro  
515 520 525

Arg Gly Leu Gln Val Ser Ile Gln Gly Glu Ala Val Ala Val Arg Pro  
530 535 540

Gly Glu Asp Val Leu Phe Val Val Arg Gln Glu Gln Gly Asp Val Leu  
545 550 555 560

Thr Thr Lys Tyr Gln Val Asp Leu Gly Asp Gly Phe Lys Ala Met Tyr  
565 570 575

Val Asn Leu Thr Leu Thr Gly Glu Pro Ile Arg His Arg Tyr Glu Ser  
580 585 590

Pro Gly Ile Tyr Arg Val Ser Val Arg Ala Glu Asn Thr Ala Gly His  
595 600 605

Asp Glu Ala Val Leu Phe Val Gln Val Asn Ser Pro Leu Gln Ala Leu  
610 615 620

Tyr Leu Glu Val Val Pro Val Ile Gly Leu Asn Gln Glu Val Asn Leu  
625 630 635 640

Thr Ala Val Leu Leu Pro Leu Asn Pro Asn Leu Thr Val Phe Tyr Trp  
645 650 655

Trp Ile Gly His Ser Leu Gln Pro Leu Leu Ser Leu Asp Asn Ser Val

# ES 2 680 222 T3

|                                                                                    |     |     |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 660                                                                                | 665 | 670 |
| Thr Thr Arg Phe Ser Asp Thr Gly Asp Val Arg Val Thr Val Gln Ala<br>675 680 685     |     |     |
| Ala Cys Gly Asn Ser Val Leu Gln Asp Ser Arg Val Leu Arg Val Leu<br>690 695 700     |     |     |
| Asp Gln Phe Gln Val Met Pro Leu Gln Phe Ser Lys Glu Leu Asp Ala<br>705 710 715 720 |     |     |
| Tyr Asn Pro Asn Thr Pro Glu Trp Arg Glu Asp Val Gly Leu Val Val<br>725 730 735     |     |     |
| Thr Arg Leu Leu Ser Lys Glu Thr Ser Val Pro Gln Glu Leu Leu Val<br>740 745 750     |     |     |
| Thr Val Val Lys Pro Gly Leu Pro Thr Leu Ala Asp Leu Tyr Val Leu<br>755 760 765     |     |     |
| Leu Pro Pro Pro Arg Pro Thr Arg Lys Arg Ser Leu Ser Ser Asp Lys<br>770 775 780     |     |     |
| Arg Leu Ala Ala Ile Gln Gln Val Leu Asn Ala Gln Lys Ile Ser Phe<br>785 790 795 800 |     |     |
| Leu Leu Arg Gly Gly Val Arg Val Leu Val Ala Leu Arg Asp Thr Gly<br>805 810 815     |     |     |
| Thr Gly Ala Glu Gln Leu Gly Gly Gly Gly Tyr Trp Ala Val Val<br>820 825 830         |     |     |
| Val Leu Phe Val Ile Gly Leu Phe Ala Ala Gly Ala Phe Ile Leu Tyr<br>835 840 845     |     |     |
| Lys Phe Lys Arg Lys Arg Pro Gly Arg Thr Val Tyr Ala Gln Met His<br>850 855 860     |     |     |
| Asn Glu Lys Glu Gln Glu Met Thr Ser Pro Val Ser His Ser Glu Asp<br>865 870 875 880 |     |     |
| Val Gln Gly Ala Val Gln Gly Asn His Ser Gly Val Val Leu Ser Ile<br>885 890 895     |     |     |
| Asn Ser Arg Glu Met His Ser Tyr Leu Val Ser<br>900 905                             |     |     |

<210> 5  
 <211> 1222  
 <212> PRT  
 <213> Homo Sapiens

<400> 5

# ES 2 680 222 T3

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Glu | Ala | Ala | Arg | Thr | Glu | Arg | Pro | Ala | Gly | Arg | Pro | Gly | Ala | Pro | 1   | 5   | 10  | 15  |
| Leu | Val | Arg | Thr | Gly | Leu | Leu | Leu | Leu | Ser | Thr | Trp | Val | Leu | Ala | Gly | 20  | 25  | 30  |     |
| Ala | Glu | Ile | Thr | Trp | Asp | Ala | Thr | Gly | Gly | Pro | Gly | Arg | Pro | Ala | Ala | 35  | 40  | 45  |     |
| Pro | Ala | Ser | Arg | Pro | Pro | Ala | Leu | Ser | Pro | Leu | Ser | Pro | Arg | Ala | Val | 50  | 55  | 60  |     |
| Ala | Ser | Gln | Trp | Pro | Glu | Glu | Leu | Ala | Ser | Ala | Arg | Arg | Ala | Ala | Val | 65  | 70  | 75  | 80  |
| Leu | Gly | Arg | Arg | Ala | Gly | Pro | Glu | Leu | Leu | Pro | Gln | Gln | Gly | Gly | Gly | 85  | 90  | 95  |     |
| Arg | Gly | Gly | Glu | Met | Gln | Val | Glu | Ala | Gly | Gly | Thr | Ser | Pro | Ala | Gly | 100 | 105 | 110 |     |
| Glu | Arg | Arg | Gly | Arg | Gly | Ile | Pro | Ala | Pro | Ala | Lys | Leu | Gly | Gly | Ala | 115 | 120 | 125 |     |
| Arg | Arg | Ser | Arg | Arg | Ala | Gln | Pro | Pro | Ile | Thr | Gln | Glu | Arg | Gly | Asp | 130 | 135 | 140 |     |
| Ala | Trp | Ala | Thr | Ala | Pro | Ala | Asp | Gly | Ser | Arg | Gly | Ser | Arg | Pro | Leu | 145 | 150 | 155 | 160 |
| Ala | Lys | Gly | Ser | Arg | Glu | Glu | Val | Lys | Ala | Pro | Arg | Ala | Gly | Gly | Ser | 165 | 170 | 175 |     |
| Ala | Ala | Glu | Asp | Leu | Arg | Leu | Pro | Ser | Thr | Ser | Phe | Ala | Leu | Thr | Gly | 180 | 185 | 190 |     |
| Asp | Ser | Ala | His | Asn | Gln | Ala | Met | Val | His | Trp | Ser | Gly | His | Asn | Ser | 195 | 200 | 205 |     |
| Ser | Val | Ile | Leu | Ile | Leu | Thr | Lys | Leu | Tyr | Asp | Phe | Asn | Leu | Gly | Ser | 210 | 215 | 220 |     |

# ES 2 680 222 T3

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Thr | Glu | Ser | Ser | Leu | Trp | Arg | Ser | Thr | Asp | Tyr | Gly | Thr | Thr | Tyr | 225 | 230 | 235 | 240 |
| Glu | Lys | Leu | Asn | Asp | Lys | Val | Gly | Leu | Lys | Thr | Val | Leu | Ser | Tyr | Leu | 245 | 250 | 255 |     |
| Tyr | Val | Asn | Pro | Thr | Asn | Lys | Arg | Lys | Ile | Met | Leu | Leu | Ser | Asp | Pro | 260 | 265 | 270 |     |
| Glu | Met | Glu | Ser | Ser | Ile | Leu | Ile | Ser | Ser | Asp | Glu | Gly | Ala | Thr | Tyr | 275 | 280 | 285 |     |
| Gln | Lys | Tyr | Arg | Leu | Thr | Phe | Tyr | Ile | Gln | Ser | Leu | Leu | Phe | His | Pro | 290 | 295 | 300 |     |
| Lys | Gln | Glu | Asp | Trp | Val | Leu | Ala | Tyr | Ser | Leu | Asp | Gln | Lys | Leu | Tyr | 305 | 310 | 315 | 320 |
| Ser | Ser | Met | Asp | Phe | Gly | Arg | Arg | Trp | Gln | Leu | Met | His | Glu | Arg | Ile | 325 | 330 | 335 |     |
| Thr | Pro | Asn | Arg | Phe | Tyr | Trp | Ser | Val | Ala | Gly | Leu | Asp | Lys | Glu | Ala | 340 | 345 | 350 |     |
| Asp | Leu | Val | His | Met | Glu | Val | Arg | Thr | Thr | Asp | Gly | Tyr | Ala | His | Tyr | 355 | 360 | 365 |     |
| Leu | Thr | Cys | Arg | Ile | Gln | Glu | Cys | Ala | Glu | Thr | Thr | Arg | Ser | Gly | Pro | 370 | 375 | 380 |     |
| Phe | Ala | Arg | Ser | Ile | Asp | Ile | Ser | Ser | Leu | Val | Val | Gln | Asp | Glu | Tyr | 385 | 390 | 395 | 400 |
| Ile | Phe | Ile | Gln | Val | Thr | Thr | Ser | Gly | Arg | Ala | Ser | Tyr | Tyr | Val | Ser | 405 | 410 | 415 |     |
| Tyr | Arg | Arg | Glu | Ala | Phe | Ala | Gln | Ile | Lys | Leu | Pro | Lys | Tyr | Ser | Leu | 420 | 425 | 430 |     |
| Pro | Lys | Asp | Met | His | Ile | Ile | Ser | Thr | Asp | Glu | Asn | Gln | Val | Phe | Ala | 435 | 440 | 445 |     |
| Ala | Val | Gln | Glu | Trp | Asn | Gln | Asn | Asp | Thr | Tyr | Asn | Leu | Tyr | Ile | Ser | 450 | 455 | 460 |     |
| Asp | Thr | Arg | Gly | Ile | Tyr | Phe | Thr | Leu | Ala | Met | Glu | Asn | Ile | Lys | Ser | 465 | 470 | 475 | 480 |

# ES 2 680 222 T3

Ser Arg Gly Leu Met Gly Asn Ile Ile Ile Glu Leu Tyr Glu Val Ala  
485 490 495

Gly Ile Lys Gly Ile Phe Leu Ala Asn Lys Lys Val Asp Asp Gln Val  
500 505 510

Lys Thr Tyr Ile Thr Tyr Asn Lys Gly Arg Asp Trp Arg Leu Leu Gln  
515 520 525

Ala Pro Asp Val Asp Leu Arg Gly Ser Pro Val His Cys Leu Leu Pro  
530 535 540

Phe Cys Ser Leu His Leu His Leu Gln Leu Ser Glu Asn Pro Tyr Ser  
545 550 555 560

Ser Gly Arg Ile Ser Ser Lys Glu Thr Ala Pro Gly Leu Val Val Ala  
565 570 575

Thr Gly Asn Ile Gly Pro Glu Leu Ser Tyr Thr Asp Ile Gly Val Phe  
580 585 590

Ile Ser Ser Asp Gly Gly Asn Thr Trp Arg Gln Ile Phe Asp Glu Glu  
595 600 605

Tyr Asn Val Trp Phe Leu Asp Trp Gly Gly Ala Leu Val Ala Met Lys  
610 615 620

His Thr Pro Leu Pro Val Arg His Leu Trp Val Ser Phe Asp Glu Gly  
625 630 635 640

His Ser Trp Asp Lys Tyr Gly Phe Thr Ser Val Pro Leu Phe Val Asp  
645 650 655

Gly Ala Leu Val Glu Ala Gly Met Glu Thr His Ile Met Thr Val Phe  
660 665 670

Gly His Phe Ser Leu Arg Ser Glu Trp Gln Leu Val Lys Val Asp Tyr  
675 680 685

Lys Ser Ile Phe Ser Arg His Cys Thr Lys Glu Asp Tyr Gln Thr Trp  
690 695 700

His Leu Leu Asn Gln Gly Glu Pro Cys Val Met Gly Glu Arg Lys Ile  
705 710 715 720

Phe Lys Lys Arg Lys Pro Gly Ala Gln Cys Ala Leu Gly Arg Asp His  
725 730 735

# ES 2 680 222 T3

Ser Gly Ser Val Val Ser Glu Pro Cys Val Cys Ala Asn Trp Asp Phe  
 740 745 750  
 Glu Cys Asp Tyr Gly Tyr Glu Arg His Gly Glu Ser Gln Cys Val Pro  
 755 760 765  
 Ala Phe Trp Tyr Asn Pro Ala Ser Pro Ser Lys Asp Cys Ser Leu Gly  
 770 775 780  
 Gln Ser Tyr Leu Asn Ser Thr Gly Tyr Arg Arg Ile Val Ser Asn Asn  
 785 790 795 800  
 Cys Thr Asp Gly Leu Arg Glu Lys Tyr Thr Ala Lys Ala Gln Met Cys  
 805 810 815  
 Pro Gly Lys Ala Pro Arg Gly Leu His Val Val Thr Thr Asp Gly Arg  
 820 825 830  
 Leu Val Ala Glu Gln Gly His Asn Ala Thr Phe Ile Ile Leu Met Glu  
 835 840 845  
 Glu Gly Asp Leu Gln Arg Thr Asn Ile Gln Leu Asp Phe Gly Asp Gly  
 850 855 860  
 Ile Ala Val Ser Tyr Ala Asn Phe Ser Pro Ile Glu Asp Gly Ile Lys  
 865 870 875 880  
 His Val Tyr Lys Ser Ala Gly Ile Phe Gln Val Thr Ala Tyr Ala Glu  
 885 890 895  
 Asn Asn Leu Gly Ser Asp Thr Ala Val Leu Phe Leu His Val Val Cys  
 900 905 910  
 Pro Val Glu His Val His Leu Arg Val Pro Phe Val Ala Ile Arg Asn  
 915 920 925  
 Lys Glu Val Asn Ile Ser Ala Val Val Trp Pro Ser Gln Leu Gly Thr  
 930 935 940  
 Leu Thr Tyr Phe Trp Trp Phe Gly Asn Ser Thr Lys Pro Leu Ile Thr  
 945 950 955 960  
 Leu Asp Ser Ser Ile Ser Phe Thr Phe Leu Ala Glu Gly Thr Asp Thr  
 965 970 975  
 Ile Thr Val Gln Val Ala Ala Gly Asn Ala Leu Ile Gln Asp Thr Lys

# ES 2 680 222 T3

|                                 |                     |             |
|---------------------------------|---------------------|-------------|
| 980                             | 985                 | 990         |
| Glu Ile Ala Val His Glu Tyr Phe | Gln Ser Gln Leu Leu | Ser Phe Ser |
| 995                             | 1000                | 1005        |
| Pro Asn Leu Asp Tyr His Asn     | Pro Asp Ile Pro Glu | Trp Arg Lys |
| 1010                            | 1015                | 1020        |
| Asp Ile Gly Asn Val Ile Lys     | Arg Ala Leu Val Lys | Val Thr Ser |
| 1025                            | 1030                | 1035        |
| Val Pro Glu Asp Gln Ile Leu     | Ile Ala Val Phe Pro | Gly Leu Pro |
| 1040                            | 1045                | 1050        |
| Thr Ser Ala Glu Leu Phe Ile     | Leu Pro Pro Lys Asn | Leu Thr Glu |
| 1055                            | 1060                | 1065        |
| Arg Arg Lys Gly Asn Glu Gly     | Asp Leu Glu Gln Ile | Val Glu Thr |
| 1070                            | 1075                | 1080        |
| Leu Phe Asn Ala Leu Asn Gln     | Asn Leu Val Gln Phe | Glu Leu Lys |
| 1085                            | 1090                | 1095        |
| Pro Gly Val Gln Val Ile Val     | Tyr Val Thr Gln Leu | Thr Leu Ala |
| 1100                            | 1105                | 1110        |
| Pro Leu Val Asp Ser Ser Ala     | Gly His Ser Ser Ser | Ala Met Leu |
| 1115                            | 1120                | 1125        |
| Met Leu Leu Ser Val Val Phe     | Val Gly Leu Ala Val | Phe Leu Ile |
| 1130                            | 1135                | 1140        |
| Tyr Lys Phe Lys Arg Lys Ile     | Pro Trp Ile Asn Ile | Tyr Ala Gln |
| 1145                            | 1150                | 1155        |
| Val Gln His Asp Lys Glu Gln     | Glu Met Ile Gly Ser | Val Ser Gln |
| 1160                            | 1165                | 1170        |
| Ser Glu Asn Ala Pro Lys Ile     | Thr Leu Ser Asp Phe | Thr Glu Pro |
| 1175                            | 1180                | 1185        |
| Glu Glu Leu Leu Asp Lys Glu     | Leu Asp Thr Arg Val | Ile Gly Gly |
| 1190                            | 1195                | 1200        |
| Ile Ala Thr Ile Ala Asn Ser     | Glu Ser Thr Lys Glu | Ile Pro Asn |
| 1205                            | 1210                | 1215        |
| Cys Thr Ser Val                 |                     |             |
| 1220                            |                     |             |

5 <210> 6  
 <211> 241  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

10 <220>  
 <221> SEÑAL

<222> (1)..(18)

<223> Péptido señal de NGF

<220>

5 <221> PROPEP

<222> (19)..(121)

<223> Propéptido de NGF (NGFpro)

<220>

10 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

<222> (19) .. (241)

<223> proNGF

<220>

15 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

<222> (122)..(241)

<223> NGF maduro

<400> 6

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Ser | Met | Leu | Phe | Tyr | Thr | Leu | Ile | Thr | Ala | Phe | Leu | Ile | Gly | Ile |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Ala | Glu | Pro | His | Ser | Glu | Ser | Asn | Val | Pro | Ala | Gly | His | Thr | Ile |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Pro | Gln | Val | His | Trp | Thr | Lys | Leu | Gln | His | Ser | Leu | Asp | Thr | Ala | Leu |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Arg | Arg | Ala | Arg | Ser | Ala | Pro | Ala | Ala | Ala | Ile | Ala | Ala | Arg | Val | Ala |
|     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gly | Gln | Thr | Arg | Asn | Ile | Thr | Val | Asp | Pro | Arg | Leu | Phe | Lys | Lys | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Arg | Leu | Arg | Ser | Pro | Arg | Val | Leu | Phe | Ser | Thr | Gln | Pro | Pro | Arg | Glu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Ala | Asp | Thr | Gln | Asp | Leu | Asp | Phe | Glu | Val | Gly | Gly | Ala | Ala | Pro |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Phe | Asn | Arg | Thr | His | Arg | Ser | Lys | Arg | Ser | Ser | Ser | His | Pro | Ile | Phe |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |

20

# ES 2 680 222 T3

His Arg Gly Glu Phe Ser Val Cys Asp Ser Val Ser Val Trp Val Gly  
130 135 140

Asp Lys Thr Thr Ala Thr Asp Ile Lys Gly Lys Glu Val Met Val Leu  
145 150 155 160

Gly Glu Val Asn Ile Asn Asn Ser Val Phe Lys Gln Tyr Phe Phe Glu  
165 170 175

Thr Lys Cys Arg Asp Pro Asn Pro Val Asp Ser Gly Cys Arg Gly Ile  
180 185 190

Asp Ser Lys His Trp Asn Ser Tyr Cys Thr Thr Thr His Thr Phe Val  
195 200 205

Lys Ala Leu Thr Met Asp Gly Lys Gln Ala Ala Trp Arg Phe Ile Arg  
210 215 220

Ile Asp Thr Ala Cys Val Cys Val Leu Ser Arg Lys Ala Val Arg Arg  
225 230 235 240

Ala

<210> 7

<211> 246

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> SEÑAL

10 <222> (1)..(18)

<223> Péptido señal de BDNF

<220>

<221> PROPEP

15 <222> (19)..(127)

<223> Propéptido de BDNF (BDNFpro)

<220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

20 <222> (19) .. (246)

<223> proBDNF

<220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

25 <222> (128)..(246)

<223> Péptido maduro de BDNF

<400> 7

Met Thr Ile Leu Phe Leu Thr Met Val Ile Ser Tyr Phe Gly Cys Met  
1 5 10 15

30

# ES 2 680 222 T3

Lys Ala Ala Pro Met Lys Glu Ala Asn Ile Arg Gly Gln Gly Gly Leu  
 20 25 30  
 Ala Tyr Pro Gly Val Arg Thr His Gly Thr Leu Glu Ser Val Asn Gly  
 35 40 45  
 Pro Lys Ala Gly Ser Gly Leu Thr Ser Leu Ala Asp Thr Phe Glu His  
 50 55 60  
 Val Ile Glu Glu Leu Leu Asp Glu Asp Gln Lys Val Arg Pro Asn Glu  
 65 70 75 80  
 Glu Asn Asn Lys Asp Ala Asp Leu Tyr Thr Ser Arg Val Met Leu Ser  
 85 90 95  
 Ser Gln Val Pro Leu Glu Pro Pro Leu Leu Phe Leu Leu Glu Glu Tyr  
 100 105 110  
 Lys Asn Tyr Leu Asp Ala Ala Asn Met Ser Met Arg Val Arg Arg His  
 115 120 125  
 Ser Asp Pro Ala Arg Arg Gly Glu Leu Ser Val Cys Asp Ser Ile Ser  
 130 135 140  
 Glu Trp Val Thr Ala Ala Asp Lys Lys Thr Ala Val Asp Met Ser Gly  
 145 150 155 160  
 Gly Thr Val Thr Val Leu Glu Lys Val Pro Val Ser Lys Gly Gln Leu  
 165 170 175  
 Lys Gln Tyr Phe Tyr Glu Thr Lys Cys Asn Pro Met Gly Tyr Thr Lys  
 180 185 190  
 Glu Gly Cys Arg Gly Ile Asp Lys Arg His Trp Asn Ser Gln Cys Arg  
 195 200 205  
 Thr Thr Gln Ser Tyr Val Arg Ala Leu Thr Met Asp Ser Lys Lys Arg  
 210 215 220  
 Ile Gly Trp Arg Phe Ile Arg Ile Asp Thr Ser Cys Val Cys Thr Leu  
 225 230 235 240  
 Thr Ile Lys Arg Gly Arg  
 245

<210> 8  
 <211> 257  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> SEÑAL  
 <222> (1)..(16)  
 <223> Péptido señal de NT3

<220>  
 <221> PROPEP

<222> (17)..(140)  
<223> Propéptido de NT3 (NT3pro)

5 <220>  
<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA  
<222> (17)..(257)  
<223> proNT3

10 <220>  
<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA  
<222> (141)..(257)  
<223> Péptido maduro de NT3

<400> 8  
Met Ser Ile Leu Phe Tyr Val Ile Phe Leu Ala Tyr Leu Arg Gly Ile  
1 5 10 15

Gln Gly Asn Asn Met Asp Gln Arg Ser Leu Pro Glu Asp Ser Leu Asn  
20 25 30

Ser Leu Ile Ile Lys Leu Ile Gln Ala Asp Ile Leu Lys Asn Lys Leu  
35 40 45

Ser Lys Gln Met Val Asp Val Lys Glu Asn Tyr Gln Ser Thr Leu Pro  
50 55 60

Lys Ala Glu Ala Pro Arg Glu Pro Glu Arg Gly Gly Pro Ala Lys Ser  
65 70 75 80

Ala Phe Gln Pro Val Ile Ala Met Asp Thr Glu Leu Leu Arg Gln Gln  
85 90 95

Arg Arg Tyr Asn Ser Pro Arg Val Leu Leu Ser Asp Ser Thr Pro Leu  
100 105 110

Glu Pro Pro Pro Leu Tyr Leu Met Glu Asp Tyr Val Gly Ser Pro Val  
115 120 125

15 Val Ala Asn Arg Thr Ser Arg Arg Lys Arg Tyr Ala Glu His Lys Ser  
130 135 140

# ES 2 680 222 T3

His Arg Gly Glu Tyr Ser Val Cys Asp Ser Glu Ser Leu Trp Val Thr  
145 150 155 160

Asp Lys Ser Ser Ala Ile Asp Ile Arg Gly His Gln Val Thr Val Leu  
165 170 175

Gly Glu Ile Lys Thr Gly Asn Ser Pro Val Lys Gln Tyr Phe Tyr Glu  
180 185 190

Thr Arg Cys Lys Glu Ala Arg Pro Val Lys Asn Gly Cys Arg Gly Ile  
195 200 205

Asp Asp Lys His Trp Asn Ser Gln Cys Lys Thr Ser Gln Thr Tyr Val  
210 215 220

Arg Ala Leu Thr Ser Glu Asn Asn Lys Leu Val Gly Trp Arg Trp Ile  
225 230 235 240

Arg Ile Asp Thr Ser Cys Val Cys Ala Leu Ser Arg Lys Ile Gly Arg  
245 250 255

Thr

<210> 9

<211> 210

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> SEÑAL

10 <222> (1)..(24)

<223> Péptido señal de NT4/5

<220>

<221> PROPEP

15 <222> (25)..(80)

<223> Propéptido de NT4/5

<220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

20 <222> (25) .. (210)

<223> proNT4/5

<220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

25 <222> (81)..(210)

<223> Péptido maduro de NT4/5

<400> 9

Met Leu Pro Leu Pro Ser Cys Ser Leu Pro Ile Leu Leu Leu Phe Leu  
1 5 10 15

30

# ES 2 680 222 T3

Leu Pro Ser Val Pro Ile Glu Ser Gln Pro Pro Pro Ser Thr Leu Pro  
 20 25 30  
 Pro Phe Leu Ala Pro Glu Trp Asp Leu Leu Ser Pro Arg Val Val Leu  
 35 40 45  
 Ser Arg Gly Ala Pro Ala Gly Pro Pro Leu Leu Phe Leu Leu Glu Ala  
 50 55 60  
 Gly Ala Phe Arg Glu Ser Ala Gly Ala Pro Ala Asn Arg Ser Arg Arg  
 65 70 75 80  
 Gly Val Ser Glu Thr Ala Pro Ala Ser Arg Arg Gly Glu Leu Ala Val  
 85 90 95  
 Cys Asp Ala Val Ser Gly Trp Val Thr Asp Arg Arg Thr Ala Val Asp  
 100 105 110  
 Leu Arg Gly Arg Glu Val Glu Val Leu Gly Glu Val Pro Ala Ala Gly  
 115 120 125  
 Gly Ser Pro Leu Arg Gln Tyr Phe Phe Glu Thr Arg Cys Lys Ala Asp  
 130 135 140  
 Asn Ala Glu Glu Gly Gly Pro Gly Ala Gly Gly Gly Gly Cys Arg Gly  
 145 150 155 160  
 Val Asp Arg Arg His Trp Val Ser Glu Cys Lys Ala Lys Gln Ser Tyr  
 165 170 175  
 Val Arg Ala Leu Thr Ala Asp Ala Gln Gly Arg Val Gly Trp Arg Trp  
 180 185 190  
 Ile Arg Ile Asp Thr Ala Cys Val Cys Thr Leu Leu Ser Arg Thr Gly  
 195 200 205

Arg Ala  
210

<210> 10  
 <211> 13  
 5 <212> PRT  
 <213> Homo Sapiens

<220>  
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA  
 10 <222> (1)..(13)  
 <223> Neurotensina

<400> 10  
 Gln Leu Tyr Glu Asn Lys Pro Arg Arg Pro Tyr Ile Leu  
 1 5 10

<210> 11  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> Homo Sapiens

<220>  
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA  
 <222> (1)..(4)  
 5 <223> Cuatro aminoácidos C-terminales de Neurotensina  
  
 <400> 11  
 Pro Tyr Ile Leu  
 1  
 10 <210> 12  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial  
 15 <220>  
 <223> Péptido generado sintéticamente  
  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 20 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa = N-metil-Arg  
  
 <220>  
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA  
 25 <222> (1)..(6)  
 <223> NT69L  
  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 30 <222> (4) .. (4)  
 <223> Xaa = L-neo-Trp  
  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 35 <222> (5)..(5)  
 <223> Xaa = terc-Leu  
  
 <400> 12  
 Xaa Lys Pro Xaa Xaa Leu  
 1 5  
 40 <210> 13  
 <211> 357  
 <212> PRT  
 <213> Homo Sapiens  
 45 <220>  
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA  
 <222> (1)..(357)  
 <223> RAP  
 50 <400> 13

ES 2 680 222 T3

|            |            |            |            |           |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
|------------|------------|------------|------------|-----------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Met<br>1   | Ala        | Pro        | Arg        | Arg<br>5  | Val        | Arg        | Ser        | Phe        | Leu<br>10  | Arg        | Gly        | Leu        | Pro        | Ala<br>15  | Leu        |
| Leu        | Leu        | Leu        | Leu<br>20  | Leu       | Phe        | Leu        | Gly        | Pro<br>25  | Trp        | Pro        | Ala        | Ala        | Ser<br>30  | His        | Gly        |
| Gly        | Lys        | Tyr<br>35  | Ser        | Arg       | Glu        | Lys        | Asn<br>40  | Gln        | Pro        | Lys        | Pro        | Ser<br>45  | Pro        | Lys        | Arg        |
| Glu        | Ser<br>50  | Gly        | Glu        | Glu       | Phe        | Arg<br>55  | Met        | Glu        | Lys        | Leu        | Asn<br>60  | Gln        | Leu        | Trp        | Glu        |
| Lys<br>65  | Ala        | Gln        | Arg        | Leu       | His<br>70  | Leu        | Pro        | Pro        | Val        | Arg<br>75  | Leu        | Ala        | Glu        | Leu        | His<br>80  |
| Ala        | Asp        | Leu        | Lys        | Ile<br>85 | Gln        | Glu        | Arg        | Asp        | Glu<br>90  | Leu        | Ala        | Trp        | Lys        | Lys<br>95  | Leu        |
| Lys        | Leu        | Asp        | Gly<br>100 | Leu       | Asp        | Glu        | Asp        | Gly<br>105 | Glu        | Lys        | Glu        | Ala        | Arg<br>110 | Leu        | Ile        |
| Arg        | Asn<br>115 | Leu        | Asn        | Val       | Ile        | Leu        | Ala<br>120 | Lys        | Tyr        | Gly        | Leu        | Asp<br>125 | Gly        | Lys        | Lys        |
| Asp        | Ala<br>130 | Arg        | Gln        | Val       | Thr        | Ser<br>135 | Asn        | Ser        | Leu        | Ser        | Gly<br>140 | Thr        | Gln        | Glu        | Asp        |
| Gly<br>145 | Leu        | Asp        | Asp        | Pro       | Arg<br>150 | Leu        | Glu        | Lys        | Leu        | Trp<br>155 | His        | Lys        | Ala        | Lys        | Thr<br>160 |
| Ser        | Gly        | Lys        | Phe<br>165 | Ser       | Gly        | Glu        | Glu        | Leu        | Asp<br>170 | Lys        | Leu        | Trp        | Arg        | Glu<br>175 | Phe        |
| Leu        | His        | His        | Lys<br>180 | Glu       | Lys        | Val        | His        | Glu<br>185 | Tyr        | Asn        | Val        | Leu        | Leu<br>190 | Glu        | Thr        |
| Leu        | Ser        | Arg<br>195 | Thr        | Glu       | Glu        | Ile        | His<br>200 | Glu        | Asn        | Val        | Ile        | Ser<br>205 | Pro        | Ser        | Asp        |
| Leu        | Ser<br>210 | Asp        | Ile        | Lys       | Gly        | Ser<br>215 | Val        | Leu        | His        | Ser        | Arg<br>220 | His        | Thr        | Glu        | Leu        |

# ES 2 680 222 T3

Lys Glu Lys Leu Arg Ser Ile Asn Gln Gly Leu Asp Arg Leu Arg Arg  
225 230 235 240

Val Ser His Gln Gly Tyr Ser Thr Glu Ala Glu Phe Glu Glu Pro Arg  
245 250 255

Val Ile Asp Leu Trp Asp Leu Ala Gln Ser Ala Asn Leu Thr Asp Lys  
260 265 270

Glu Leu Glu Ala Phe Arg Glu Glu Leu Lys His Phe Glu Ala Lys Ile  
275 280 285

Glu Lys His Asn His Tyr Gln Lys Gln Leu Glu Ile Ala His Glu Lys  
290 295 300

Leu Arg His Ala Glu Ser Val Gly Asp Gly Glu Arg Val Ser Arg Ser  
305 310 315 320

Arg Glu Lys His Ala Leu Leu Glu Gly Arg Thr Lys Glu Leu Gly Tyr  
325 330 335

Thr Val Lys Lys His Leu Gln Asp Leu Ser Gly Arg Ile Ser Arg Ala  
340 345 350

Arg His Asn Glu Leu  
355

<210> 14

<211> 475

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

10 <222> (1)..(475)

<223> LPL

<400> 14

Met Glu Ser Lys Ala Leu Leu Val Leu Thr Leu Ala Val Trp Leu Gln  
1 5 10 15

Ser Leu Thr Ala Ser Arg Gly Gly Val Ala Ala Ala Asp Gln Arg Arg  
20 25 30

Asp Phe Ile Asp Ile Glu Ser Lys Phe Ala Leu Arg Thr Pro Glu Asp  
35 40 45

15

# ES 2 680 222 T3

Thr Ala Glu Asp Thr Cys His Leu Ile Pro Gly Val Ala Glu Ser Val  
50 55 60

Ala Thr Cys His Phe Asn His Ser Ser Lys Thr Phe Met Val Ile His  
65 70 75 80

Gly Trp Thr Val Thr Gly Met Tyr Glu Ser Trp Val Pro Lys Leu Val  
85 90 95

Ala Ala Leu Tyr Lys Arg Glu Pro Asp Ser Asn Val Ile Val Val Asp  
100 105 110

Trp Leu Ser Arg Ala Gln Glu His Tyr Pro Val Ser Ala Gly Tyr Thr  
115 120 125

Lys Leu Val Gly Gln Asp Val Ala Arg Phe Ile Asn Trp Met Glu Glu  
130 135 140

Glu Phe Asn Tyr Pro Leu Asp Asn Val His Leu Leu Gly Tyr Ser Leu  
145 150 155 160

Gly Ala His Ala Ala Gly Ile Ala Gly Ser Leu Thr Asn Lys Lys Val  
165 170 175

Asn Arg Ile Thr Gly Leu Asp Pro Ala Gly Pro Asn Phe Glu Tyr Ala  
180 185 190

Glu Ala Pro Ser Arg Leu Ser Pro Asp Asp Ala Asp Phe Val Asp Val  
195 200 205

Leu His Thr Phe Thr Arg Gly Ser Pro Gly Arg Ser Ile Gly Ile Gln  
210 215 220

Lys Pro Val Gly His Val Asp Ile Tyr Pro Asn Gly Gly Thr Phe Gln  
225 230 235 240

Pro Gly Cys Asn Ile Gly Glu Ala Ile Arg Val Ile Ala Glu Arg Gly  
245 250 255

Leu Gly Asp Val Asp Gln Leu Val Lys Cys Ser His Glu Arg Ser Ile  
260 265 270

His Leu Phe Ile Asp Ser Leu Leu Asn Glu Glu Asn Pro Ser Lys Ala  
275 280 285

Tyr Arg Cys Ser Ser Lys Glu Ala Phe Glu Lys Gly Leu Cys Leu Ser  
290 295 300

# ES 2 680 222 T3

Cys Arg Lys Asn Arg Cys Asn Asn Leu Gly Tyr Glu Ile Asn Lys Val  
305 310 315 320

Arg Ala Lys Arg Ser Ser Lys Met Tyr Leu Lys Thr Arg Ser Gln Met  
325 330 335

Pro Tyr Lys Val Phe His Tyr Gln Val Lys Ile His Phe Ser Gly Thr  
340 345 350

Glu Ser Glu Thr His Thr Asn Gln Ala Phe Glu Ile Ser Leu Tyr Gly  
355 360 365

Thr Val Ala Glu Ser Glu Asn Ile Pro Phe Thr Leu Pro Glu Val Ser  
370 375 380

Thr Asn Lys Thr Tyr Ser Phe Leu Ile Tyr Thr Glu Val Asp Ile Gly  
385 390 395 400

Glu Leu Leu Met Leu Lys Leu Lys Trp Lys Ser Asp Ser Tyr Phe Ser  
405 410 415

Trp Ser Asp Trp Trp Ser Ser Pro Gly Phe Ala Ile Gln Lys Ile Arg  
420 425 430

Val Lys Ala Gly Glu Thr Gln Lys Lys Val Ile Phe Cys Ser Arg Glu  
435 440 445

Lys Val Ser His Leu Gln Lys Gly Lys Ala Pro Ala Val Phe Val Lys  
450 455 460

Cys His Asp Lys Ser Leu Asn Lys Lys Ser Gly  
465 470 475

<210> 15

<211> 317

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

10 <222> (1)..(317)

<223> Apo E

<400> 15

Met Lys Val Leu Trp Ala Ala Leu Leu Val Thr Phe Leu Ala Gly Cys  
1 5 10 15

Gln Ala Lys Val Glu Gln Ala Val Glu Thr Glu Pro Glu Pro Glu Leu

15

ES 2 680 222 T3

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |     |     |     |
| Arg | Gln | Gln | Thr | Glu | Trp | Gln | Ser | Gly | Gln | Arg | Trp | Glu | Leu | Ala | Leu |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Gly | Arg | Phe | Trp | Asp | Tyr | Leu | Arg | Trp | Val | Gln | Thr | Leu | Ser | Glu | Gln |
| 50  |     |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Val | Gln | Glu | Glu | Leu | Leu | Ser | Ser | Gln | Val | Thr | Gln | Glu | Leu | Arg | Ala |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Leu | Met | Asp | Glu | Thr | Met | Lys | Glu | Leu | Lys | Ala | Tyr | Lys | Ser | Glu | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Glu | Glu | Gln | Leu | Thr | Pro | Val | Ala | Glu | Glu | Thr | Arg | Ala | Arg | Leu | Ser |
|     |     | 100 |     |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Lys | Glu | Leu | Gln | Ala | Ala | Gln | Ala | Arg | Leu | Gly | Ala | Asp | Met | Glu | Asp |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Val | Cys | Gly | Arg | Leu | Val | Gln | Tyr | Arg | Gly | Glu | Val | Gln | Ala | Met | Leu |
| 130 |     |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Gly | Gln | Ser | Thr | Glu | Glu | Leu | Arg | Val | Arg | Leu | Ala | Ser | His | Leu | Arg |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Leu | Arg | Lys | Arg | Leu | Leu | Arg | Asp | Ala | Asp | Asp | Leu | Gln | Lys | Arg |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Leu | Ala | Val | Tyr | Gln | Ala | Gly | Ala | Arg | Glu | Gly | Ala | Glu | Arg | Gly | Leu |
|     |     | 180 |     |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Ser | Ala | Ile | Arg | Glu | Arg | Leu | Gly | Pro | Leu | Val | Glu | Gln | Gly | Arg | Val |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Arg | Ala | Ala | Thr | Val | Gly | Ser | Leu | Ala | Gly | Gln | Pro | Leu | Gln | Glu | Arg |
| 210 |     |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Ala | Gln | Ala | Trp | Gly | Glu | Arg | Leu | Arg | Ala | Arg | Met | Glu | Glu | Met | Gly |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Ser | Arg | Thr | Arg | Asp | Arg | Leu | Asp | Glu | Val | Lys | Glu | Gln | Val | Ala | Glu |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Val | Arg | Ala | Lys | Leu | Glu | Glu | Gln | Ala | Gln | Gln | Ile | Arg | Leu | Gln | Ala |
|     |     | 260 |     |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Glu | Ala | Phe | Gln | Ala | Arg | Leu | Lys | Ser | Trp | Phe | Glu | Pro | Leu | Val | Glu |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Asp | Met | Gln | Arg | Gln | Trp | Ala | Gly | Leu | Val | Glu | Lys | Val | Gln | Ala | Ala |
| 290 |     |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Val | Gly | Thr | Ser | Ala | Ala | Pro | Val | Pro | Ser | Asp | Asn | His |     |     |     |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     |     |

# REIVINDICACIONES

- 1.- Un anticuerpo para usar en un método de tratamiento y/o prevención de concentraciones plasmáticas de lípidos anómalas en un animal, en donde dicho anticuerpo es un antagonista y dicho anticuerpo es capaz de unirse a un receptor de sortilina inhibiendo así la actividad de dicho receptor de sortilina.
- 5 2.- El anticuerpo según la reivindicación 1, en donde dicho anticuerpo es capaz de inhibir la unión de la ApoB a dicho receptor de sortilina.
- 3.- El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el animal es un ser humano.
- 4.- El anticuerpo según la reivindicación 1, en donde dicho anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en:  
10 anticuerpos policlonales, anticuerpos monoclonales, anticuerpos humanizados, anticuerpos de una cadena, anticuerpos recombinantes.
- 5.- El anticuerpo según las reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo se dirige contra la parte extracelular de la sortilina.
6. El antagonista según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el antagonista se une a un resto de aminoácido del sitio de unión que comprende los restos de aminoácidos R325, S316, Y351, I353, K260, I327, F314, F350 a M363, S305, F306, T398 a G400, I303-G309, Q349-A356, Y395 y T402 de SEQ ID NO. 1.
- 15 7. El antagonista según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el antagonista se une a un resto de aminoácido del sitio de unión que comprende los restos de aminoácidos L572, L114, V112, R109 a S111, S115 a G118, T570, G571, W586, W597, T168-I174, L572, A573 y S584 a F588 de SEQ ID NO. 1.
8. El uso según la reivindicación 1, en donde las concentraciones plasmáticas de lípidos anómalas es en la  
20 hiperlipoproteinemia primaria, hiperlipidemia combinada, hiperlipemia endógena, hipertrigliceridemia familiar, aterosclerosis, accidente cerebrovascular (apoplejía), enfermedad cerebrovascular, enfermedad arterial coronaria, hipercolesterolemia, hiperlipidemia, infarto de miocardio (ataque cardíaco) y tromboembolia venosa.