

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 693 321**

51 Int. Cl.:

C07K 14/435 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.03.2013 PCT/EP2013/055326**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.01.2014 WO14012683**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.03.2013 E 13709221 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.08.2018 EP 2875042**

54 Título: **Péptidos antiinflamatorios y composición que comprende los mismos**

30 Prioridad:

**20.07.2012 KR 20120079096
14.08.2012 KR 20120089161
14.08.2012 KR 20120089162
14.08.2012 KR 20120089167
19.09.2012 KR 20120104144
19.09.2012 KR 20120104207**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.12.2018

73 Titular/es:

**KAEL-GEMVAX CO.,LTD (50.0%)
9F, GemVax Tower, 939 Unjung-dong Bundang-gu Seongnam-si
Gyeonggi-do 463-440, KR y
KIM, SANG JAE (50.0%)**

72 Inventor/es:

**KIM, SANG JAE;
KIM, KYUNG HEE;
LEE, KYU-YONG;
KOH, SEONG-HO;
KIM, BUM JOON;
PARK, HYUN-HEE;
HUH, SUNG JIN;
LEE, WOO JIN;
JANG, HWAIN y
HA, JUNG SOON**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 693 321 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Péptidos antiinflamatorios y composición que comprende los mismos

Campo de la invención

La presente invención se refiere a péptidos antiinflamatorios y a composiciones que comprenden a los mismos.

5 Antecedentes de la invención

La inflamación es un tipo de defensa biológica como un medio de protección del cuerpo frente al daño de tejidos biológicos que podría ocasionarse mediante estímulos físicos externos, estímulos químicos tales como la exposición a diversos alérgenos, o la invasión de microorganismos que incluyen bacterias, hongos y virus.

10 La vía de la ciclooxigenasa (COX) o la vía de la lipooxigenasa (LOX) se pueden usar para señalar la inflamación, que produce prostaglandina, tromboxano, etc. Una vez que se ha propagado la señal inflamatoria, uno de los muchos cambios que pueden tener lugar en el cuerpo es la expansión del vaso sanguíneo para un elevado suministro de sangre alrededor de la inflamación para concentrar células sanguíneas tales como neutrófilos requeridos para la respuesta inflamatoria. Sin embargo, se pueden dar enfermedades inflamatorias si una respuesta de defensa biológica anómala tiene lugar de forma excesiva. Para evitar esto, los fármacos que suprimen las respuestas inflamatorias excesivas reprimiendo las enzimas utilizadas en las vías de señalización inflamatoria (por ejemplo, COX-1, COX-2, 5-LOX, 12-LOX etc.) están en desarrollo.

15 Según el tiempo de respuesta, la inflamación se clasifica como inflamación aguda (respuesta inmediata, respuesta inespecífica, de varios días a varias semanas), inflamación crónica (respuesta retardada, respuesta específica, varias semanas o más), inflamación subaguda (una etapa intermedia entre la inflamación aguda y la inflamación crónica, características de un producto mixto de mononuclear y polimorfonuclear).

20 Además, aparte de los factores peptídicos, los factores tales como prostaglandina, leucotrieno, los factores lipídicos que incluyen el factor activador de plaquetas (PAF), la enzima sintética del factor de inflamación, los radicales libres tales como NO (óxido nítrico), muchos tipos de moléculas de adhesión celular, el sistema inmunitario y los factores de coagulación pueden provocar la inflamación.

25 Una vez que una célula se daña debido a los agentes causales conocidos de la inflamación tales como factores biológicos externos (microbios, virus, parásitos), factores físicos (estímulos mecánicos, calor, radiación, electricidad) y factores químicos, se libera histamina y cinina. La histamina y cinina liberadas darán como resultado la angiectasia, una permeabilidad capilar y concentración de macrófagos aumentadas en el sitio de inflamación, y provoca un aumento del flujo sanguíneo, edema, migración de inmunocitos y anticuerpos, dolor y generación de calor.

30 Los tratamientos para la inflamación usados en la actualidad son fármacos sintéticos tales como ibuprofeno, antihistamínicos, esteroides, cortisona, agentes inmunosupresores y agonistas inmunitarios; que solo alivian temporalmente la inflamación. Estos fármacos no curan fundamentalmente la inflamación, y tienen efectos secundarios tales como reacción de hipersensibilidad y deterioro del sistema inmunitario,

35 Por lo tanto, para un alivio eficaz de la inflamación, se están haciendo investigaciones para desarrollar una sustancia que inhiba la expresión de las proteínas inflamatorias mencionadas anteriormente. Sin embargo, han surgido problemas en las sustancias antiinflamatorias que se han desarrollado anteriormente. Se han desarrollado diversas categorías de fármacos antiinflamatorios que incluyen fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID, del inglés *Non-steroidal Antiinflammatory Drugs*) y fármacos antiinflamatorios esteroideos (SAID, del inglés *Steroidal Antiinflammatory Drugs*); pero no solo estos fármacos a menudo provocan efectos secundarios tras su uso, sino que tampoco curan fundamentalmente la inflamación. Por lo tanto, hay una necesidad actual por fármacos antiinflamatorios que son factibles tanto físicamente como económicamente. Como ejemplo, en inflamaciones agudas o crónicas tales como artritis reumatoide crónica, no solo los fármacos antiinflamatorios no esteroideos suprimen la actividad enzimática de COX-2, sino que también se sabe que suprimen la actividad de COX-1, provocando efectos secundarios tales como trastornos gastrointestinales.

40 La presente invención se completó ya que los presentes inventores han descubierto que los péptidos que provienen de la telomerasa pueden tener propiedades antiinflamatorias.

Por lo tanto, el objeto de la presente invención es proporcionar un nuevo péptido.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar el polinucleótido que codifica el nuevo péptido.

50 Otro objeto de la presente invención es proporcionar un péptido que tiene actividad antiinflamatoria.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar una composición antiinflamatoria que usa el presente péptido como principio activo.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar una composición cosmética que usa el presente péptido como un principio activo.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica que usa el presente péptido como un principio activo.

5 Sumario de la invención

En una realización, la presente invención se refiere a un péptido con actividad antiinflamatoria, en el que el péptido comprende al menos una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:101 y 158. En otra realización, el péptido mencionado anteriormente se origina a partir de telomerasa humana.

10 En una realización, la presente invención se refiere a un polinucleótido que codifica un péptido con actividad antiinflamatoria, en el que el péptido comprende al menos una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:101 y 158. En otra realización, la presente invención se refiere a una composición antiinflamatoria que comprende el péptido mencionado anteriormente como un principio activo.

En otra realización, la composición mencionada anteriormente es para el tratamiento o la profilaxis de enfermedades inflamatorias.

15 En otra realización, la composición mencionada anteriormente es una composición cosmética para la mejora o la prevención de la inflamación de la piel.

En otra realización, la composición mencionada anteriormente es una composición farmacéutica para el tratamiento o la profilaxis de enfermedades inflamatorias.

20 En otra realización, la composición mencionada anteriormente es una composición alimenticia para el tratamiento o la profilaxis de la inflamación.

En otra realización, la enfermedad inflamatoria mencionada anteriormente se caracteriza por la selección del grupo que consiste en (1) enfermedad inflamatoria general o localizada (por ejemplo, alergias; enfermedad por inmunocomplejo; fiebre del heno; choque hipersensible; choque por endotoxina; caquexia, hipertermia; granulomatosis; o sarcoidosis); (2) enfermedades relacionadas con el aparato digestivo (por ejemplo, apendicitis; úlcera gástrica; úlcera duodenal; peritonitis; pancreatitis; colitis ulcerosa, aguda o isquémica; colangitis; colecistitis, esteatorrea, hepatitis, enfermedad de Crone; o enfermedad de Whipple); (3) enfermedades relacionadas con la piel (por ejemplo, psoriasis; quemaduras; quemaduras solares; dermatitis; verrugas urticantes o habones); (4) enfermedades relacionadas con el sistema vascular (por ejemplo, angiitis; vasculitis; endocarditis; arteritis; aterosclerosis; tromboflebitis; pericarditis; insuficiencia cardíaca congestiva; miocarditis; isquemia miocárdica; periarteritis nodosa; estenosis recurrente; enfermedad de Buerger; o fiebre reumática); (5) enfermedades respiratorias (por ejemplo, asma; epiglotitis; bronquitis; enfisema; rinitis; fibrosis quística; neumonitis intersticial; enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC); síndrome de distrés respiratorio del adulto; coniosis; alveolitis; bronquiolitis; faringitis; pleuritis; o sinusitis); (6) enfermedades relacionadas con los huesos, articulaciones, músculos y tejidos conectivos (por ejemplo, granuloma eosinófilo; artritis; artralgia; osteomielitis; dermatomiositis; fascitis; enfermedad de Paget; gota; periodontitis; artritis reumatoide; miastenia grave; espondilitis anquilosante; o sinovitis); (7) trastornos urogenitales (por ejemplo, epididimitis; vaginitis; prostatitis; o uretritis); (8) enfermedades relacionadas con el sistema nervioso central o periférico (por ejemplo, enfermedad de Alzheimer; meningitis; encefalitis; esclerosis múltiple; infarto cerebral; embolia cerebral; síndrome de Guillain-Barre; neuritis; neuralgia; lesión de la médula espinal; parálisis; o uveítis); (9) enfermedades infecciosas por virus (por ejemplo, virus de la gripe; virus respiratorio sincicial; VIH; virus de la hepatitis B; de hepatitis C; o virus herpes) (por ejemplo, fiebre del dengue; o septicemia), infección fúngica (por ejemplo, candidiasis); o bacteriana, por parásitos, e infecciones microbianas similares (por ejemplo, bacteriemia diseminada; malaria; oncocercosis; o amebiasis); (10) enfermedades autoinmunes (por ejemplo, tiroiditis; lupus; síndrome de Goodpasture; rechazo a aloinjerto; enfermedad de injerto frente a huésped; o diabetes); y (11) cáncer o enfermedad tumoral (por ejemplo, linfoma de Hodgkin).

45 En una realización de la presente invención, la composición mencionada anteriormente es para su uso en un procedimiento para el tratamiento o la prevención de enfermedades inflamatorias mediante la administración de la composición antiinflamatoria.

50 En una realización de la presente invención, se proporciona un kit para la profilaxis o el tratamiento de enfermedades inflamatorias que comprende: un péptido con actividad antiinflamatoria seleccionado del grupo que consiste en las SEQ ID NO:101 y 158 e instrucciones que incluyen al menos uno de administración de la dosis, vía de administración, frecuencia de administración e indicaciones del péptido o de la composición.

Aplicabilidad industrial

55 De acuerdo con la presente invención, un péptido que tiene una secuencia de la SEQ ID NO: 101 o la SEQ ID NO: 158 tiene una eficacia sobresaliente tanto en la supresión de la inflamación como en los medios profilácticos. Por lo tanto, la composición que comprende los péptidos de la presente invención se puede usar como composición

farmacéutica antiinflamatoria o como composición de cosmética, a su vez, para tratar y prevenir una variedad de diferentes tipos de enfermedades inflamatorias.

Referencias

- 5 KR2012-0130996A
- KR2012-0133661A
- KR2011-0060940A
- US2011-0150873A1
- Bonaldi T y col., EMBO J, (22)5551-60, 2003
- 10 Yankner BA y col., Science (Nueva York, N.Y.) [1990, 250(4978):279-282]
- Dahlgren KN y col., J. Biol. Chem. 277:32046-32053, 2002.

Breve descripción de los dibujos

- 15 La FIG. 1 a la FIG. 16 son los resultados de la selección sistemática de los efectos de inhibición de TNF-α sobre monocitos.
- La FIG. 17 a la FIG. 35 son los resultados de la selección sistemática de los efectos de inhibición de TNF-α sobre la línea celular THP-1.
- Las FIG. 36 a 108 son los resultados de los análisis por transferencia de western de los péptidos seleccionados que presentan acumulación de HMGB1 en la célula.

Descripción detallada de la invención

20 Dado que la presente invención puede tener adaptabilidad para diversas transformaciones y ejemplos de aplicación práctica, a continuación se da una descripción más detallada de la presente invención.

No obstante, esto no significa que limite la forma de la aplicación práctica; debería entenderse que la intención es incluir el concepto y el alcance de la tecnología en todas las transformaciones, equivalentes a alternativas. En la descripción de la presente invención, si se considera que cualquier descripción detallada sobre la técnica anterior deteriora los principios fundamentales de la presente invención, la descripción se omitirá.

25 Un telómero es conocido como una secuencia repetitiva de material genético en los extremos de los cromosomas que evita que los cromosomas se dañen o se fusionen con otros cromosomas. La longitud de un telómero se acorta con cada división celular, y después de un determinado número de divisiones celulares, la longitud del telómero se acorta de manera extrema hasta el punto en el que la célula deja de dividirse y muere. Por otra parte, se sabe que la elongación de los telómeros prolonga la esperanza de vida de una célula. Por ejemplo, las células cancerosas excretan una enzima llamada telomerasa, que evita el acortamiento de los telómeros, dando así como resultado la proliferación de células cancerosas. La presente invención se llevó a cabo tras el descubrimiento de péptidos derivados de la telomerasa con efectos antiinflamatorios.

30 En una realización de la presente invención, se proporciona un péptido con actividades antiinflamatorias. El péptido comprende al menos una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:101 y 158.

Los péptidos descritos en la SEQ ID NO:1 a la SEQ ID NO:161 son como en la siguiente tabla 1. La SEQ ID NO:162 enumera el orden de la proteína telomerasa humana de longitud completa. La SEQ ID NO:163 enumera el péptido derivado de la telomerasa que consiste en una secuencia de 16 aminoácidos.

Tabla 1

SEQ ID NO	NOMBRE	POSICIÓN EN LA TELOMERASA	SECUENCIA	LONGITUD
1.	pép2	[660-689]	ALFSVLNYERARRPGLLGASVLGLDDIHRA	30 aa
2.	pép3	[663-677]	SVLNYERARRPGLLG	15 aa
3.	pép4	[674-683]	GLLGASVLGL	10 aa
4.	pép5	[615-624]	ALLTSRLRFI	10 aa
5.	pép6	[613-621]	RPALLTSRL	9 aa
6.	pép7	[653-661]	RLTSRVKAL	9 aa
7.	pép8	[691-705]	RTFVLRVRAQDPPE	15 aa
8.	pép9	[653-667]	RLTSRVKALFSVLNY	15 aa
9.	pép10	[651-665]	AERLTSRVKALFSVL	15 aa
10.	pép11	[667-675]	YERARRPGL	9 aa
11.	pép12	[675-683]	LLGASVLGL	9 aa

ES 2 693 321 T3

(continuación)

SEQ ID NO	NOMBRE	POSICIÓN EN LA TELOMERASA	SECUENCIA	LONGITUD
12.	pép13	[680-689]	VLGLDDIHRA	10 aa
13.	pép14	[677-686]	GASVLGLDDI	10 aa
14.	pép15	[660-669]	ALFSVLNYER	10 aa
15.	pép16	[663-672]	SVLNYERARR	10 aa
16.	pép17	[679-688]	SVLGLDDIHR	10 aa
17.	pép18	[662-671]	FSVLNYERAR	10 aa
18.	pép19	[666-675]	NYERARRPGL	10 aa
19.	pép20	[667-676]	YERARRPGLL	10 aa
20.	pép21	[672-681]	RPGLLGASVL	10 aa
21.	pép22	[668-676]	ERARRPGLL	9 aa
22.	pép23	[680-688]	VLGLDDIHR	9 aa
23.	pép24	[663-671]	SVLNYERAR	9 aa
24.	pép25	[664-672]	VLNYERARR	9 aa
25.	pép26	[670-678]	ARRPGLLGA	9 aa
26.	pép27	[673-681]	PGLLGASVL	9 aa
27.	pép28	[671-679]	RRPGLLGAS	9 aa
28.	pép29	[660-668]	ALFSVLNYE	9 aa
29.	pép30	[674-682]	GLLGASVLG	9 aa
30.	pép31	[679-687]	SVLGLDDIH	9 aa
31.	pép32	[668-675]	ERARRPGL	8 aa
32.	pép33	[670-677]	ARRPGLLG	8 aa
33.	pép34	[674-681]	GLLGASVL	8 aa
34.	pép35	[669-676]	RARRPGLL	8 aa
35.	pép36	[676-683]	LGASVLGL	8 aa
36.	pép37	[563-577]	VTETTFQKNRFFYR	15 aa
37.	pép38	[573-587]	LFFYRKSVWSKLQSI	15 aa
38.	pép39	[583-597]	KLQSIGIRQHLKRVQ	15 aa
39.	pép40	[603-617]	EAEVRQHREARPALL	15 aa
40.	pép41	[613-627]	RPALLTSRLRFIPKP	15 aa
41.	pép42	[623-637]	FIPKPDGLRPVNM	15 aa
42.	pép43	[643-657]	RTFRREKRAERLTSR	15 aa
43.	pép45	[683-697]	LDDIHRWRTFVLRV	15 aa
44.	pép46	[693-707]	FVLRVRAQDPPPELY	15 aa
45.	pép47	[721-735]	PQDRLTEVIASIIKP	15 aa
46.	pép48	[578-592]	KSVWSKLQSIGIRQH	15 aa
47.	pép49	[593-608]	LKRVQLRELSAEVRQ	16 aa
48.	pép50	[1-20]	MPRAPRCRAVRSLLRSHYRE	20 aa
49.	pép51	[21-40]	VLPLATFVRRLGPQGWRLVQ	20 aa
50.	pép52	[41-60]	RGDPAAFRALVAQCLVCVPW	20 aa
51.	pép53	[61-80]	DARPPPAAPSFRQVSKLKL	20 aa
52.	pép54	[81-100]	VARVLQRLCERGAKNVLAFG	20 aa
53.	pép55	[101-120]	FALLDGARGGPPEAFTTSVR	20 aa
54.	pép56	[121-140]	SYLPNTVTDALRGSGAWGLL	20 aa
55.	pép57	[141-160]	LRRVGDDVLVHLLARCALFV	20 aa
56.	pép58	[161-180]	LVAPSCAYQVCGPPPLYQLGA	20 aa
57.	pép59	[181-200]	ATQARPPPHASGPRRRLGCE	20 aa

ES 2 693 321 T3

(continuación)

SEQ ID NO	NOMBRE	POSICIÓN EN LA TELOMERASA	SECUENCIA	LONGITUD
58.	pép60	[201-220]	RAWNHSVREAGVPLGLPAPG	20 aa
59.	pép61	[221-240]	ARRRGGASRSRLPLPKRPRR	20 aa
60.	pép62	[241-260]	GAAPEPERTPVGQGSWAHPG	20 aa
61.	pép63	[261-280]	RTRGPSDRGFCVSPARPAE	20 aa
62.	pép64	[281-300]	EATSLEGALSGTRHSHPSVG	20 aa
63.	pép65	[301-320]	RQHHAGPPSTSRPPRPWDTP	20 aa
64.	pép66	[321-340]	CPPVYAETKHFLYSSGDKEQ	20 aa
65.	pép67	[341-360]	LRPSFLLSSLRPSLTGARRL	20 aa
66.	pép68	[361-380]	VETIFLGSRPWMPGTPRRLP	20 aa
67.	pép69	[381-400]	RLPQRYWQMRPLFLELLGNH	20 aa
68.	pép70	[401-420]	AQCPYGVLLKTHCPLRAAVT	20 aa
69.	pép71	[421-440]	PAAGVCAREKPGQSVAAPEE	20 aa
70.	pép72	[441-460]	EDTDPRLVQLLRQHSSPWQ	20 aa
71.	pép73	[461-480]	VYGFVRACLRRLVPPGLWGS	20 aa
72.	pép74	[481-500]	RHNERRFLRNTKKFISLGKH	20 aa
73.	pép75	[501-520]	AKLSLQELTWKMSVRDCAWL	20 aa
74.	pép76	[521-540]	RRSPGVGCVPAAEHRLREEI	20 aa
75.	pép77	[541-560]	LAKFLHWLMSVYVVELLSF	20 aa
76.	pép78	[561-580]	FYVTETTFQKNRFFYRKS	20 aa
77.	pép79	[581-600]	WSKLQSIGIRQHLKRVQLRE	20 aa
78.	pép80	[601-620]	LSEAEVRQHREARPALLTSR	20 aa
79.	pép81	[621-640]	LRFIPKPDGLRPVINDYVV	20 aa
80.	pép82	[641-660]	GARTFRREKRAERLTSRVKA	20 aa
81.	pép83	[661-680]	LFSVLNYERARRPGLLGASV	20 aa
82.	pép84	[681-700]	LGLDDIHRARWTFVLRVRAQ	20 aa
83.	pép85	[701-720]	DPPPELYFVKVDVTGAYDTI	20 aa
84.	pép86	[721-740]	PQDRLTEVIASIIKPQNTYC	20 aa
85.	pép87	[741-760]	VRRYAVVQKAAHGHVRKAFK	20 aa
86.	pép88	[761-780]	SHVSTLTDLQPYMRQFVAHL	20 aa
87.	pép89	[781-800]	QETSPLRDAVVIEQSSSLNE	20 aa
88.	pép90	[801-820]	ASSGLFDVFLRFMCHHAVRI	20 aa
89.	pép91	[821-840]	RGKSYVQCQGIQGSILSTL	20 aa
90.	pép92	[841-860]	LCSLCYGD MENKLFAGIRRD	20 aa
91.	pép93	[861-880]	GLLLRLVDDFLLVTPHLTHA	20 aa
92.	pép94	[881-900]	KTFLRRTLVRGVPEYGCVVNL	20 aa
93.	pép95	[901-920]	RKTVVNFVPEDEALGGTAFV	20 aa
94.	pép96	[921-940]	QMPAHGLFPWCGLLLDTRTL	20 aa
95.	pép97	[941-960]	EVQSDYSSYARTSIRASLTF	20 aa
96.	pép98	[961-980]	NRGFKAGRNMRRKLFGLVRL	20 aa
97.	pép99	[981-1000]	KCHSLFLDLQVNSLQTVCTN	20 aa
98.	pép100	[1001-1020]	IYKILLQAYRFHACVLQLP	20 aa
99.	pép101	[1021-1040]	FHQQVWKNPTFFLRVISDTA	20 aa
100.	pép102	[1041-1060]	SLCYSILKAKNAGMSLGAKG	20 aa
101.	pép103	[1061-1080]	AAGPLPSEAVQWLCHQAFLL	20 aa
102.	pép104	[1081-1100]	KLTRHRVTYVPLLGSLRTAQ	20 aa
103.	pép105	[1101-1120]	TQLSRKLP GTTLTALEAAAN	20 aa
104.	pép106	[1121-1132]	PALPSDFKTILD	12 aa

ES 2 693 321 T3

(continuación)

SEQ ID NO	NOMBRE	POSICIÓN EN LA TELOMERASA	SECUENCIA	LONGITUD
105.	pép107	[1-10]	MPRAPRCRAV	10 aa
106.	pép108	[11-30]	RSLLRSHYREVLPLATFVRR	20 aa
107.	pép109	[31-50]	LGPQGWRLVQRGDPAAFRAL	20 aa
108.	pép110	[51-70]	VAQLLVCVPWDARPPPAAPS	20 aa
109.	pép111	[71-90]	FRQVSLKELVARVLQRLCE	20 aa
110.	pép112	[91-110]	RGAKNVLAFGFALLDGARGG	20 aa
111.	pép113	[111-130]	PPEAFTTSVRSYLPNTVTDA	20 aa
112.	pép114	[131-150]	LRGSGAWGLLLRRVGDVLLV	20 aa
113.	pép115	[151-170]	HLLARCALFVLVAPSCAYQV	20 aa
114.	pép116	[171-190]	CGPLYQLGAATQARPPPHA	20 aa
115.	pép117	[191-210]	SGPRRRLGCERAWNHSVREA	20 aa
116.	pép118	[211-230]	GVPLGLPAPGARRRGGASR	20 aa
117.	pép119	[231-250]	SLPLPKRPRRGAAPERTP	20 aa
118.	pép120	[251-270]	VGQGSWAHPGRTRGPSDRGF	20 aa
119.	pép121	[271-290]	CVVSPARPAEEATSLEGALS	20 aa
120.	pép122	[291-310]	GTRHSHPSVGRQHHAGPPST	20 aa
121.	pép123	[311-330]	SRPPRPWDTPCPPVYAETKH	20 aa
122.	pép124	[331-350]	FLYSSGDKEQLRPSFLLSSL	20 aa
123.	pép125	[351-370]	RPSLTGARRLVETIFLGSRP	20 aa
124.	pép126	[371-390]	WMPGTPRRLPRLPQRYWQMR	20 aa
125.	pép127	[391-410]	PLFLELLGNHAQCPYGVLLK	20 aa
126.	pép128	[411-430]	THCPLRAAVTPAAGVCAREK	20 aa
127.	pép129	[431-450]	PQGSVAAPPEEEDTPRRLVQ	20 aa
128.	pép130	[451-470]	LLRQHSSPWQVYGFVRACLR	20 aa
129.	pép131	[471-490]	RLVPPGLWGSRHNERRFLRN	20 aa
130.	pép132	[491-510]	TKKFISLKGHAKLSLQELTW	20 aa
131.	pép133	[511-530]	KMSVRDCAWLRRSPGVGCVP	20 aa
132.	pép134	[531-550]	AAEHRLREEILAKFLHWLMS	20 aa
133.	pép135	[551-570]	VYVVELLRSFFYVTETTFQK	20 aa
134.	pép136	[571-590]	NRLFFYRKSVMWKLQSIGIR	20 aa
135.	pép137	[591-610]	QHLKRVQLRELSAEVRQHR	20 aa
136.	pép138	[611-630]	EARPALLTSRLRFIPKPDGL	20 aa
137.	pép139	[631-650]	RPIVNMDYVVGARTFRREKR	20 aa
138.	pép140	[651-670]	AERLTSRVKALFVSLNYERA	20 aa
139.	pép141	[671-690]	RRPGLLGASVLGLDDIHRW	20 aa
140.	pép142	[691-710]	RTFVLRVRAQDPPELYFVK	20 aa
141.	pép143	[711-730]	VDVTGAYDTIPQDRLTEVIA	20 aa
142.	pép144	[731-750]	SIKPQNTYCVRRYAVVQKA	20 aa
143.	pép145	[751-770]	AHGHVRKAFKSHVSTLTDLQ	20 aa
144.	pép146	[771-790]	PYMRQFVAHLQETSPLRDAV	20 aa
145.	pép147	[791-810]	VIEQSSSLNEASSGLFDVFL	20 aa
146.	pép148	[811-830]	RFMCHHAVRIRGKSYVQCQG	20 aa
147.	pép149	[831-850]	IPQGSILSTLLCSLCYGDME	20 aa
148.	pép150	[851-870]	NKLFAGIRRDGLLLRLVDDF	20 aa
149.	pép151	[871-890]	LLVTPHLTHAKTFLRTLVRG	20 aa
150.	pép152	[891-910]	VPEYGCVVNLRKTVVNFVPE	20 aa
151.	pép153	[911-930]	DEALGGTAFVQMPAHGLFPW	20 aa

ES 2 693 321 T3

(continuación)

SEQ ID NO	NOMBRE	POSICIÓN EN LA TELOMERASA	SECUENCIA	LONGITUD
152.	pép154	[931-950]	CGLLLDTRTLEVQSDYSSYA	20 aa
153.	pép155	[951-970]	RTSIRASLTFNRGFKAGRNM	20 aa
154.	pép156	[971-990]	RRKLFQVLRKCHSLFLDLQ	20 aa
155.	pép157	[991-1010]	VNSLQTVCTNIYKILLQAY	20 aa
156.	pép158	[1011-1030]	RFHACVLQLPFHQVWKNPT	20 aa
157.	pép159	[1031-1050]	FFLRVISDTASLCYSILKAK	20 aa
158.	pép160	[1051-1070]	NAGMSLGAKGAAGPLPSEAV	20 aa
159.	pép161	[1071-1090]	QWLCHQAFLLKLTRHRVTYV	20 aa
160.	pép162	[1091-1110]	PLLGLSRTAQTQLSRKLPGT	20 aa
161.	pép163	[1111-1132]	TLTALEAAAANPALPSDFKTILD	22 aa
162.	Telomerasa	[1-1132]	MPRAPRCRAVRSLLRSHYREVLPLATFVRR LGPQGWRLVQRGDPAAFRALVAQCLVCVPW DARPPPAAPSFQVVSCLKELVARVLQRLCERG AKNVLAFGFALLDGARGGPPEAFTTSVRSYLP NTVTDALRGSGAWGLLLRRVGDDVLVHLLAR CALFVLVAPSCAYQVCGPPPLYQLGAATQARPP PHASGPRRRRLGCERAWNHVREAGVPLGLPA PGARRRGGASRSRSLPLPKRPRRGAAPEPERTP VGQGSWAHPGRTRGPSDRGFCVVSPARPAE EATSLEGALSGTRHSHPSVGRQHHAGPPSTS	1132 aa

(continuación)

SEQ ID NO	NOMBRE	POSICIÓN EN LA TELOMERASA	SECUENCIA	LONGITUD
			RPPRPWDTPCPPVYAETKHFLYSSGDKEQLR PSFLLSSLRPSLTGARRLVETIFLGSRPWMPG TPRRLPRLPQRYWQMRPLFLELLGNHAQCPY GVLLKTHCPLRAAVTPAAGVCAREKPQGSVA APEEEDTDPRLVQLLRQHSSPWQVYGFVRA CLRRLVPPGLWGSRHNERFLRNTKKFISLG KHAKLSLQELTWKMSVRDCAWLRRSPGVGC VPAAEHRLREEILAKFLHWLMSVYVVELLSF FYVTETTFQKNRLFFYRKSVWSKLQSIGIRQH LKRVLRELSEAEVRQHREARPALLTSRLRFI PKPDGLRPVINDYVVGARTFRREKRAERLT SRVKALFVNLNERARRPGLLGASVLGLDDIH RAWRTFVLRVRAQDPPPELYFVKVDVTGAYD TIPQDRLTEVIASIIKPQNTYCVRRYAVVQKA AHGHVRKAFKSHVSTLTDLQPYMRQFVAHLQ ETSPLRDAVVIEQSSSLNEASSGLFDVFLRFM CHHAVRIRGKSYVQCQGIPQGSILSTLLCSLC YGDMENKLFAGIRRDGLLLRLVDDFLLVTPHL THAKTFLRTLVRGVPEYGCVVNLKRVVNFVP EDEALGGTAFVQMPAHGLFPWCGLLLDTRTL EVQSDYSSYARTSIRASLTFNRGFKAGRNM RKLFGVLRKCHSLFLDLQVNSLQTVCTNIYK ILLQAYRFHACVLQLPFHQVWKNPTFFLRV ISDTASLCYSILKAKNAGMSLGAKGAAGPLPS EAVQWLCHQAFLLKLTRHRVTYVPLLGLSRTA QTQLSRKLPGTTTLTALEAAANPALPSDFKIL D	
163.	pép 1	[611-626]	EARPALLTSRLRFIPK	16 aa

En una realización de la presente invención, se proporciona un polinucleótido que codifica un péptido con actividades antiinflamatorias. El polinucleótido codifica un péptido que comprende al menos una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:101 y 158. El polinucleótido mencionado anteriormente permite la producción de los péptidos en grandes cantidades. Por ejemplo, el cultivo de vectores que incluyen polinucleótidos que codifican péptidos permite la producción de péptidos en grandes cantidades.

5

En la presente memoria descriptiva y en las reivindicaciones, las expresiones "homología" e "identidad de secuencia" se usan de forma intercambiable para indicar el grado de solapamiento de secuencias entre dos secuencias de aminoácidos (o si fuera relevante: de ácidos nucleicos).

10

Salvo que se indique lo contrario, la expresión "identidad de secuencia" para péptidos tal como se usan en el presente documento se refiere a la identidad de secuencia calculada como $(n_{ref} - n_{dif}) \cdot 100 / n_{ref}$, en la que n_{dif} es el número total de restos no idénticos en las dos secuencias cuando se alinean, de manera que un número máximo de aminoácidos son idénticos y en la que n_{ref} es el número de restos en la más corta de las secuencias. Por lo tanto, la secuencia de ADN tendrá una identidad de secuencia del 75 % con la secuencia aatcaatc ($n_{dif}=2$ y $n_{ref}=8$).

- En algunas realizaciones, la identidad de secuencia se determina mediante procedimientos convencionales, por ejemplo, Smith y Waterman, 1981, Adv. Appl. Math. 2:482, mediante el procedimiento de búsqueda de similitud de Pearson y Lipman, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU 85:2444, usando el algoritmo CLUSTAL W de Thompson y col., 1994, Nucleic Acids Res 22:467380, mediante implementaciones computerizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA en el paquete informático de Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group). El algoritmo BLAST (Altschul y col., 1990, Mol. Biol. 215:403-10) para el cual se puede obtener el programa informático del National Center for Biotechnology Information www.ncbi.nlm.nih.gov/) también se puede usar. Cuando se usa cualquiera de los algoritmos mencionados anteriormente, se usan los parámetros por defecto para la longitud de "ventana", penalización de hueco, etc.
- 5 En una realización de la presente invención, los cambios en la secuencia de aminoácidos pertenecen a la modificación de las características físicas y químicas del péptido. Por ejemplo, la transformación de los aminoácidos se puede realizar mejorando la estabilidad térmica del péptido, alterando la especificidad del sustrato y cambiando el pH óptimo.
- 10 En una realización de la presente invención, un polinucleótido es una molécula de ácido nucleico que pueden ser moléculas de ADN o de ARN espontáneas o artificiales, bien de cadena simple o de cadena doble. La molécula de ácido nucleico puede ser de uno o más ácidos nucleicos del mismo tipo (por ejemplo, que tienen una misma secuencia de nucleótidos) o de ácidos nucleicos de diferentes tipos. Las moléculas de ácido nucleico comprenden uno o más ADN, ADNc, ADN señuelo, ARN, ARNsi, ARNmi, ARNsh, ARNst, ARNpno, ARNpn PNA, oligómero antisentido, plásmido y otros ácidos nucleicos modificados, pero sin limitación a estos.
- 15 Una proteína HMGB1 se conoce como una citocina. Primero se somete a acetilación y translocación al citoplasma mediante estimulación externa. Después se secreta fuera de la célula, cumpliendo, por lo tanto, el papel de citocina causante de la inflamación. Dado que cuando se tiene una inflamación debido a tal actividad, la proteína HMGB1 se secreta fuera de la célula, y los pacientes con enfermedades inflamatorias tales como síndrome de Churg-Strauss, artritis reumatoide y síndrome de Sjogren presentarán elevados niveles séricos de HMGB1. Por lo tanto, si el núcleo
- 20 contiene grandes cantidades de HGMB1 incluso cuando hay un estímulo que provoca la inflamación, es sugerente del hecho de que HMGB1 no se está secretando fuera de la célula, lo que significa que se está suprimiendo la inflamación.
- 25 En una realización de la presente invención, cuando se trata una célula con un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos cualquiera seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:101 y 158, la cantidad de HGMB1 dentro del núcleo aumenta. Esto representa que los péptidos mencionados anteriormente tienen excelentes efectos preventivos o supresores de la inflamación.
- 30 Además, en realizaciones específicas de la presente invención, un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos cualquiera seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:101 y 158 tiene la ventaja de que tiene alta viabilidad debido a su baja toxicidad dentro de una célula.
- 35 En la presente invención, una "enfermedad inflamatoria" es una indicación amplia que se refiere a cualquier enfermedad que designa una inflamación como una causa principal o una inflamación causada por la enfermedad. Específicamente, una enfermedad inflamatoria incluye (1) enfermedad inflamatoria general o localizada (por ejemplo, alergias; enfermedad por inmunocomplejo; fiebre del heno; choque hipersensible; choque por endotoxina; caquexia, hipertermia; granulomatosis; o sarcoidosis); (2) enfermedades relacionadas con el aparato digestivo (por ejemplo, apendicitis; úlcera gástrica; úlcera duodenal; peritonitis; pancreatitis; colitis ulcerosa, aguda o isquémica; colangitis; colecistitis, esteatorrea, hepatitis, enfermedad de Crone; o enfermedad de Whipple); (3) enfermedades relacionadas con la piel (por ejemplo, psoriasis; quemaduras; quemaduras solares; dermatitis; verrugas urticantes o habones); (4) enfermedades relacionadas con el sistema vascular (por ejemplo, angiitis; vasculitis; endocarditis; arteritis; aterosclerosis; tromboflebitis; pericarditis; insuficiencia cardíaca congestiva; miocarditis; isquemia miocárdica; periarteritis nodosa; estenosis recurrente; enfermedad de Buerger; o fiebre reumática); (5) enfermedades respiratorias (por ejemplo, asma; epiglotitis; bronquitis; enfisema; rinitis; fibrosis quística; neumonitis intersticial; enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC); síndrome de distrés respiratorio del adulto; coniosis; alveolitis; bronquiolitis; faringitis; pleuritis; o sinusitis); (6) enfermedades relacionadas con los huesos, articulaciones, músculos y tejidos conectivos (por ejemplo, granuloma eosinófilo; artritis; artralgia; osteomielitis; dermatomiositis; fascitis; enfermedad de Paget; gota; periodontitis; artritis reumatoide; miastenia grave; espondilitis anquilosante; o sinovitis); (7) trastornos urogenitales (por ejemplo, epididimitis; vaginitis; prostatitis; o uretritis); (8) enfermedades relacionadas con el sistema nervioso central o periférico (por ejemplo, enfermedad de Alzheimer; meningitis; encefalitis; esclerosis múltiple; infarto cerebral; embolia cerebral; síndrome de Guillain-Barre; neuritis; neuralgia; lesión de la médula espinal; parálisis; o uveítis); (9) enfermedades infecciosas por virus (por ejemplo, virus de la gripe; virus respiratorio sincicial; VIH; virus de la hepatitis B; de hepatitis C; o virus herpes) (por ejemplo, fiebre del dengue; o septicemia), infección fúngica (por ejemplo, candidiasis); o bacteriana, por parásitos, e infecciones microbianas similares (por ejemplo, bacteriemia diseminada; malaria; oncocercosis; o amebiasis); (10) enfermedades autoinmunes (por ejemplo, tiroiditis; lupus; síndrome de Goodpasture; rechazo a aloinjerto; enfermedad de injerto frente a huésped; o diabetes); y (11) cáncer o enfermedad tumoral (por ejemplo, linfoma de Hodgkin), pero sin limitación a estos.
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60

- Tratar el componente inflamatorio de tales enfermedades ha sido la principal meta de las industrias farmacéuticas globales durante varias décadas, y se han desarrollado una amplia variedad de tratamientos útiles. Los ejemplos incluyen los corticoesteroides (un rango de agentes naturales, semisintéticos y sintéticos diseñados para simular el efecto del cortisol, que incluye la prednisolona, metilprednisolona, dexametasona, betametasona, fluticasona, etcétera), inhibidores de ciclooxigenasa (no selectivos o selectivos de cox-1, tales como indometacina, sulfasalazina y aspirina, y más recientemente selectivos de cox-2, tales como celecoxib), bloqueantes de leucotrieno (tales como monteleukast) y anti-TNF (tales como anticuerpos neutralizantes monoclonales modificados, que incluyen infliximab (Remicade™) y adalimumab (Humira™), proteínas de fusión del receptor de TNF, tales como etanercept (Enbrel™), así como los inhibidores de la síntesis de TNF- α de moléculas pequeñas como la talidomida).
- En una realización de la presente invención, se proporciona una composición antiinflamatoria que comprende un péptido como principio activo. El péptido comprende al menos una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:101 y 158. En una realización de la presente invención, la composición antiinflamatoria puede contener de 0,1 $\mu\text{g}/\text{mg}$ a 1 mg/mg , específicamente de 1 $\mu\text{g}/\text{mg}$ a 0,5 mg/mg , más específicamente de 10 $\mu\text{g}/\text{mg}$ a 0,1 mg/mg de un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:101 y 158. Cuando el péptido está contenido dentro del rango mencionado anteriormente, toda la seguridad y estabilidad de la composición puede ser satisfactoria y apropiada en términos de rentabilidad.
- En una realización de la presente invención, la composición puede tener aplicación con todos los animales, incluyendo el ser humano, perro, pollo, cerdo, vaca, oveja, cobaya y mono.
- En una realización de la presente invención, la composición médica es para el uso de tratamiento o profilaxis de la enfermedad inflamatoria con un principio activo que se compone de un péptido seleccionado del grupo que consiste en las SEQ ID NO:101 y 158. En una realización de la presente invención, la composición farmacéutica se puede administrar por vía oral, rectal, transdérmica, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, en médula ósea, epidural o subcutánea.
- Las formas de administración oral pueden ser, aunque sin limitación, comprimidos, píldoras, cápsulas blandas o duras, gránulos, polvos, solución o emulsión. Las formas de administración no oral pueden ser, aunque sin limitación, inyecciones, infusiones intravenosas, lociones, pomadas, geles, cremas, suspensiones, emulsiones, supositorio, parche o pulverizador.
- En una realización de la presente invención, la composición farmacéutica, si es necesario, puede contener aditivos, tales como diluyentes, excipientes, lubricantes, aglutinantes, disgregantes, tampones, dispersantes, tensioactivos, agentes colorantes, aromatizantes o edulcorantes. En una realización de la presente invención, la composición farmacéutica se puede fabricar mediante procedimientos convencionales de la industria en la materia.
- En una realización de la presente invención, el principio activo de la composición médica puede variar de acuerdo con la edad, el sexo, el peso, la patología y el estado del paciente, la vía de administración o el criterio del médico. La dosificación basada en estos factores se determina dentro de los niveles por los expertos en la materia, y la dosis diaria por ejemplo puede ser, aunque sin limitación, de 0,1 $\mu\text{g} / \text{kg} / \text{día}$ a 1 $\text{g} / \text{kg} / \text{día}$, específicamente de 1 $\mu\text{g} / \text{kg} / \text{día}$ a 10 $\text{mg} / \text{kg} / \text{día}$, más específicamente de 10 $\mu\text{g} / \text{kg} / \text{día}$ a 1 $\text{mg} / \text{kg} / \text{día}$, más específicamente de 50 $\mu\text{g} / \text{kg} / \text{día}$ a 100 $\mu\text{g} / \text{kg} / \text{día}$. En una realización de la presente invención, La composición farmacéutica puede administrarse, aunque sin limitación, de 1 a 3 veces al día.
- En una realización de la presente invención, se proporciona una composición externa de la piel para la mejora o la prevención de inflamación de la piel. La composición externa de la piel puede contener un principio activo que es un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:101 y 158. En otra realización de la presente invención, se proporciona una composición de cosmético para la mejora o la prevención de inflamación de la piel. La composición de cosmético puede contener un principio activo que es un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 101 y 158. En una realización de la presente invención, la composición de aplicación externa o la composición de cosmético se puede proporcionar en todas las formas apropiadas para aplicaciones tópicas. Por ejemplo, las formas se pueden proporcionar como soluciones, emulsiones obtenidas mediante la dispersión de fase de aceite en agua, emulsión obtenida mediante la dispersión de agua en fase oleosa, suspensión, sólido, gel, polvo, pasta, espuma o aerosol. Estas formas se pueden fabricar mediante procedimientos convencionales de la industria en la materia.
- En una realización de la presente invención, la composición de cosmético puede incluir, dentro de los niveles que no perjudicarán al efecto principal, otros ingredientes que pueden aumentar de forma deseable el efecto principal. En una realización de la presente invención, la composición de cosmético puede incluir adicionalmente, hidratantes, agentes emolientes, tensioactivos, absorbentes de UV, conservantes, fungicidas, antioxidantes, agente de ajuste de pH, pigmentos orgánicos o inorgánicos, aromáticos, agente refrigerante o antitranspirante. La relación de formulación de los principios activos mencionados anteriormente la pueden decidir los expertos en la materia dentro de los niveles que no perjudicarán el fin y los efectos de la presente invención, y la relación de formulación basada en el peso total de la composición de cosmético puede ser del 0,01 al 5 % en peso, específicamente del 0,01 al 3 % en peso.

En una realización de la presente invención, se proporciona una composición alimenticia para la prevención o la supresión de la inflamación. La composición alimenticia puede contener un principio activo que es un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 101 y 158. En una realización de la presente invención, la composición alimenticia no se limita a las formas, pero por ejemplo puede ser formas de gránulos, polvo, líquido y sólido. Cada forma puede estar formada con ingredientes usados comúnmente en la industria elegidos de manera apropiada por los expertos en la materia, además del principio activo, y pueden aumentar el efecto con otros ingredientes.

La decisión para la dosificación del principio activo mencionado anteriormente está dentro del nivel de los expertos en la materia, y la dosificación diaria puede ser, por ejemplo, de 1 µg / kg / día a 10 mg / kg / día, más específicamente de 10 µg / kg / día a 1 mg / kg / día, más específicamente de 50 µg / kg / día a 100 µg / kg / día, pero no se limita a estos números y puede variar de acuerdo con la edad, el estado de salud, las complicaciones y otros diversos factores.

En una realización de la presente invención, se proporciona un uso de prevención o tratamiento de enfermedad inflamatoria con un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:101 y 158. En una realización de la presente invención, se proporciona el procedimiento de prevención o tratamiento de una enfermedad inflamatoria con aplicación en pacientes de los péptidos mencionados anteriormente.

En una realización de la presente invención, se proporciona un kit para la profilaxis o el tratamiento de enfermedades inflamatorias. El kit puede contener: un péptido con actividad antiinflamatoria o una composición que comprende el péptido, en la que el péptido comprende una secuencia de aminoácidos cualquiera seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:101 y 158; e instrucciones que incluyen al menos uno de administración de la dosis, vía de administración, frecuencia de administración e indicaciones del péptido o de la composición.

Los términos usados en el presente documento pretenden ser usado para describir las realizaciones, no para limitar la presente invención. Los términos sin números delante no son para limitar la cantidad, sino para mostrar que puede haber más de una cosa del término usado. Las expresiones "que incluye", "que tiene", "que consiste" y "que comprende" se interpretarán abiertamente (es decir, "que incluye pero no se limita a"). Se usa la mención de un intervalo de números en lugar de indicar números separados dentro del intervalo, de manera que salvo que se indique de manera explícita, cada número se puede leer como números separados integrados en el presente documento. Los valores finales de todos los intervalos se incluyen en el intervalo y se pueden combinar de forma independiente.

Salvo que se indique otra cosa o claramente se contradiga por el contexto, todos los procedimientos mencionados en el presente documento se pueden realizar en el orden apropiado. El uso de cualquier realización y toda realización, o lenguaje ejemplar (por ejemplo, que use "como ~"), salvo que se incluya en las reivindicaciones, se usa para describir más claramente la presente invención, no para limitar el ámbito de la presente invención. Cualquier lenguaje en el presente documento fuera de las reivindicaciones no debería de interpretarse como una necesidad de la presente invención. Salvo que definan de otro modo, los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el significado que normalmente entiende un experto en la materia a la que pertenece la invención.

Las realizaciones preferidas de la presente invención son el mejor modo conocido por los inventores para realizar la presente invención. Puede resultar claro para los expertos en la técnica después de leer las declaraciones antes de las variaciones en las realizaciones preferidas. Los presentes inventores esperan que los expertos en la materia puedan usar las variaciones de forma adecuada y que la presente invención se lleve a cabo de otras formas que las enumeradas en el presente documento. Por lo tanto, la presente invención, según lo permitido por la ley de patentes, incluye equivalentes y variaciones de la misma, de los puntos clave de la invención indicada en las reivindicaciones adjuntas. Además, todas las variaciones posibles dentro de cualquier combinación de los componentes mencionados anteriormente se incluyen en la presente invención, salvo que se indique explícitamente lo contrario o se contradiga por el contexto. Aunque la presente invención se describe y se muestra mediante las realizaciones ejemplares, los expertos en la materia entenderán bien que puede haber diversos cambios en la forma y en los detalles sin desviarse del espíritu de la invención y del intervalo, definido por las reivindicaciones a continuación.

Se sabe que el factor de necrosis tumoral (TNF), particularmente TNF-α, se libera desde las células inflamatorias y provoca diversas reacciones citotóxicas, reacciones inmunológicas y reacciones inflamatorias. Se sabe que el TNF-α está implicado en la aparición y en la prolongación de muchas enfermedades inflamatorias y autoinmunes y que además provoca septicemia y choque séptico cuando se libera a la sangre y actúa de forma sistémica. Dado que el TNF-α es un factor asociado ampliamente con el sistema inmunitario de un ser vivo, el desarrollo de agentes que inhiben el TNF-α se lleva a cabo de forma activa. El TNF-α se biosintetiza en una forma activa y llega a ser una forma activa mediante la escisión por proteasa; la enzima responsable de la activación se llama enzima convertidora de factor de necrosis tumoral (TACE). Por lo tanto, una sustancia que inhibe esta TACE puede tratar, mejorar o prevenir enfermedades, afecciones patológicas, afecciones anómalas, problemas, síntomas adversos y similares atribuidos al TNF-α.

La proteína de alta movilidad del grupo Box-1 (HMGB1) existe en altas concentraciones en el timo, en los nódulos linfáticos, en los testículos y en el hígado fetal, y salvo en las células del hígado y del cerebro, normalmente existe dentro del núcleo. Dicha proteína HMGN1 tiene 3 dominios que consisten en A-box, B-box y C-terminal.

5 Tracey y col., 1999 documentaron que la proteína HMGB1 tiene un papel como una citocina que induce inflamación, y el mecanismo de inducción de inflamación de dicha HMGB1 es mediante un estímulo externo que provoca la acetilación de HMGB1 que, entonces, se desplaza desde el núcleo hasta el citoplasma. Después, se sabe que se secreta fuera de la célula, o se secreta fuera de la célula en necrosis. (Bonaldi T y col., EMBO J, (22)5551-60, 2003).

10 La invención se describe adicionalmente mediante las figuras, los siguientes ejemplos y experimentos, que son únicamente para el fin de ilustrar realizaciones específicas de la presente invención, y no para interpretarlos de ningún modo como limitantes del ámbito de la invención.

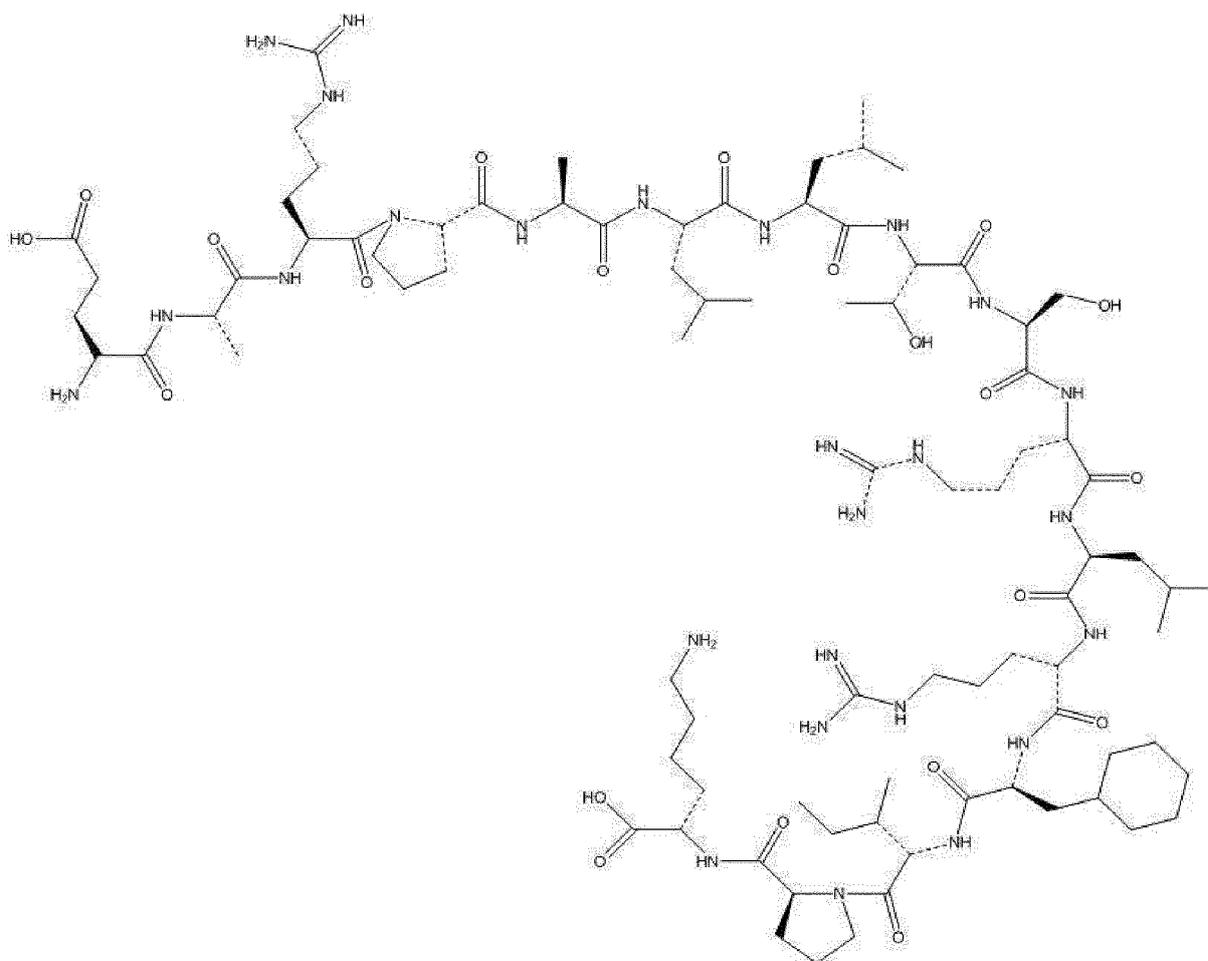
Ejemplo 1

Síntesis de PEP-1 y medición de actividades antiinflamatorias de PEP-1 (SEQ ID NO:1)

Experimento 1. Síntesis de PEP-1 (SEQ ID NO:1)

15 Se sintetizó un péptido comprendido por 16 aminoácidos con la estructura química 1 como a continuación que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 1 (PEP-1) que deriva de la telomerasa humana:

<Estructura Química 1>



20 La SEQ ID NO:1 (PEP-1) se sintetizó de acuerdo con el procedimiento existente de síntesis de péptidos en fase sólida. En detalle, los péptidos se sintetizaron acoplado cada aminoácido del extremo C-terminal a través de síntesis de péptidos en fase sólida de Fmoc, SPPS, usando ASP48S (Pepton, Inc., Daejeon ROK). Los péptidos con su primer aminoácido en el extremo C-terminal que se une a la resina se utilizaron de la siguiente manera:

NH₂-Lys(Boc)-2-cloro-Resina de tritilo

NH₂-Ala-2-cloro-Resina de tritilo

NH₂-Arg(Pbf)-2-cloro-Resina de tritilo

5 Todos los materiales de aminoácidos para sintetizar el péptido estaban protegidos por Fmoc en el extremo N-terminal, y los restos de aminoácidos estaban protegidos por Trt, Boc, t-Bu (t-butiléster), Pbf (2,2,4,6,7-pentametil dihidro-benzofuran-5-sulfonilo) que se puede disolver en ácido. Tal como:

Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Trp(Boc)-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Tyr(tBu)-OH, Fmoc-Ahx-OH, Trt-Ácido mercaptoacético.

10 HBTU[2-(hexafluorofosfato de 1H-Benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetametilaminio] / HOBt [N-Hidroxibenzotriazol] / NMM [4-Metilmorfolina] se usaron como los reactivos de acoplamiento. Se usó la piperidina en DMF al 20 % para eliminar el Fmoc. Con el fin de eliminar la protección de los restos o de separar el péptido sintetizado de la resina, se usó la mezcla de escisión [TFA (ácido trifluoroacético) / TIS (trisopropilsilano) / EDT (etanoditiol) / H₂O=92,5/2,5/2,5/2,5].

15 Se sintetizó el péptido utilizando el andamiaje de fase sólida combinado con el aminoácido de partida con la protección de aminoácidos, haciendo reaccionar los aminoácidos correspondientes por separado, lavando con disolvente y desprotegiendo, y repitiendo el procedimiento. Después de cortar el péptido sintetizado de la resina, se purificó mediante HPLC y se verificó la síntesis mediante MS y después se liofilizó.

El procedimiento de síntesis específico de PEP1 se describe a continuación.

1) Acoplamiento

20 Fusionar el aminoácido (8 equivalentes) protegido con NH₂-Lys(Boc)-2-cloro-Resina de tritilo, y el agente de acoplamiento HBTU(8 equiv.)/HOBt(8 equiv.)/NMM(16 equiv.) y añadir a DMF, después dejar reaccionar a temperatura ambiente durante 2 horas, después lavar con DMF, MeOH y DMF en ese orden.

2) Desprotección de Fmoc

Añadir piperidina al 20 % en DMF y dejar reaccionar a temperatura ambiente durante 5 minutos 2 veces, después lavar con DMF, MeOH y DMF en ese orden.

25 3) Hacer el marco básico del péptido repitiendo las reacciones 1 y 2 repetidamente.

4) Escisión: Añadir la mezcla de escisión al péptido sintetizado por completo y separar el péptido de la resina.

5) Añadir éter dietílico refrigerante a la mezcla obtenida, y luego centrifugar para precipitar el péptido recogido.

6) Tras la purificación mediante Prep-HPLC, comprobar el peso molecular mediante LC/MS y liofilizar para producirlo en forma de polvo.

30 Experimento 2: Medición de la actividad antiinflamatoria de PEP 1

Cultivo de líneas celulares

35 Las células de macrófago Raw 264.7 (KCBL, 40071) de Korea Cell Bank se mantuvieron en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM; PAA, Austria) que contiene suero bovino fetal al 10 % (FBS; Gibco Laboratories), 100 unidades/ml de estreptomina, y penicilina (Gibco Laboratories) a 37 °C con CO₂ al 5 %. Las células Raw264.7 se sembraron en una placa de 96 pocillos a una densidad de 1 x 10⁶ células/ml y se dejó incubar toda la noche.

40 Al día siguiente, se reemplazó el medio con medio reciente y se añadieron a las células 5 µg/ml de péptido (obtenido tal como se describe en el ejemplo del Experimento 1). Después de 30 minutos de incubación de las células con el péptido se añadieron 50 µl de LPS (hasta una concentración final de 1 µg/ml) y las células se incubaron durante 24 horas adicionales. La muestra experimental con la inducción de respuesta inflamatoria se trató con 1 µg/ml ml de lipopolisacárido (LPS; Sigma, EE.UU.) y la muestra experimental se trató con solución salina tamponada con fosfato (PBS; a pH 7,2). Se recolectaron muestras de sobrenadante de cada afección en tubos eppendorf y se sometieron a análisis adicionales.

Experimento 2-1. Análisis del nivel de NO

45 El nivel de óxido nítrico (NO) se midió en las células Raw 264.7 (1 x 10⁶ células/ml) usando el sistema del reactivo de Griess (Promega, EE.UU.). Se añadió medio de cultivo de 50 µl a una placa de 96 pocillos y se añadió solución de reactivo de Griess I (NED) y reactivo de Griess II (solución de sulfanilamida) en la misma cantidad. Tras incubar 10 minutos las células con los reactivos, se midió la densidad óptica a 540 nm en 30 minutos usando un lector de microplaca (Molecular Devices, EE.UU.). Se calculó la concentración de NO usando una curva estándar (0-100 µM) de nitrato de sodio.

50 Tal como se muestra en la Tabla 3, a continuación, la estimulación de las células con LPS aumentó la expresión de NO, pero en cotratamiento con LPS y PEP1, el nivel de expresión del NO mencionado anteriormente se redujo. El

NO se produce durante la inflamación, y el resultado de que Pép1 redujo el nivel de NO al 65% del control apoya el efecto antiinflamatorio de Pép1.

Tabla 3. La medición del efecto antiinflamatorio de PEP1 derivado de telomerasa humana

Muestra de ensayo		Nivel de control de expresión de NO (%)	Nivel reducido de expresión de NO (%)
PBS		0	-
1 µg/ml de LPS	PBS	100	0
	PEP 1 (0,5 µg/ml)	35	65

Experimento 2-2. Análisis del efecto inhibidor de citocina

- 5 Para investigar el efecto de PEP1 en la inhibición de la producción de citocina proinflamatoria, las células RAW 264.7 se pretrataron con PEP 1 a una concentración de 5 µg/ml, se expusieron con LPS a una concentración de 1 µg/ml, y las células se incubaron adicionalmente durante 24 horas. Las muestras de sobrenadante que contienen el medio de cultivo celular se recolectaron y se analizaron los niveles de citocina usando kits de ELISA (eBioscience, San Diego).
- 10 Las placas de 96 pocillos se recubrieron con 100 µl de anticuerpos de captura (diluidos en tampón de recubrimiento hasta la concentración recomendada por el protocolo del fabricante) toda la noche a 4 °C. Después, tras lavar las placas 5 veces, se añadieron 200 µl de diluyentes de ensayo a cada pocillo y se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente para el bloqueo. Tras lavar cada pocillo con tampón de lavado cinco veces, la muestra de cultivo celular o cada muestra de proteína estándar de citocina se diluyó y se añadieron 100 µl de cada en cada pocillo. La placa que contenía las muestras se incubó toda la noche a 4 °C.
- 15

Después, tras lavar la placa cinco veces con el tampón de lavado, se añadieron 100 µl de anticuerpo secundario conjugado con avidina y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente.

- 20 Tras la incubación con el anticuerpo secundario, se lavó la placa cinco veces y se incubó con 100 µl de avidina-HRP (BD Bioscience) durante 30 minutos a temperatura ambiente. Tras lavar la placa siete veces, se añadieron 100 µl de solución TMB (Pierce) y se incubó durante 15 min a temperatura ambiente. La reacción se detuvo añadiendo 50 µl de 2N H₂SO₄ en cada pocillo. Se midió la densidad óptica a 450 nm usando un lector de microplaca. Se realizó el análisis estadístico mediante análisis de la varianza usando el procedimiento de ANOVA del programa SPSS, y se verificó la significación entre los análisis usando la prueba del rango múltiple de Duncan.

Experimento 2-3. Medición de la secreción de IL-6

- 25 Tal como se muestra en la Tabla 4, a continuación, el tratamiento solo con LPS aumentó la secreción de citocina IL-6 (interleucina-6). Sin embargo, el cotratamiento con LPS y PEP-1 mostró una reducción en el nivel de secreción de citocina proinflamatoria IL-6. Lo más importante, tras el tratamiento con PEP-1, el nivel de secreción de citocina proinflamatoria se redujo en más del 70 %, lo que indica un fuerte efecto antiinflamatorio de Pép1.

Tabla 4. Inhibición de la producción de citocina IL-6 mediante PEP-1

Muestra de ensayo		producción de citocina IL-6	
		% de control	% de inhibición
PBS		0	-
1 µg/ml de LPS	PBS	100	0
	PEP 1 (5 µg/ml)	28	72

30 Experimento 2-4. Inhibición de la expresión de HMGB1, TNF-α, COX-2

- El nivel de expresión de proteína se determinó mediante análisis por transferencia de Western. Las células cultivadas en medio que contenía PEP-1 se lavaron con PBS, se trataron con tripsina-EDTA al 0,05 % y se recolectaron mediante centrifugación. Las células recolectadas se disolvieron en un volumen apropiado de tampón de lisis. Los sedimentos intracelulares se sedimentaron mediante centrifugación y la misma cantidad de proteína de cada muestra se separó mediante electroforesis en gel de poliacrilamida con SDS. La proteína separada se transfirió a la membrana de nitrocelulosa (Schleicher and Schuell, Keene, NH, EE.UU.), después se ensayó el anticuerpo específico para cada proteína. La membrana se incubó con solución ECL (quimioluminiscencia mejorada) (Amersham Life Science Corp., Arlington Heights, IL, EE.UU.), se expuso a rayos X y se analizó el nivel de expresión de proteínas de acuerdo con el nivel de exposición mostrado en la película de rayos X.
- 35

- 40 Se realizó el análisis por transferencia de Western para determinar el efecto inhibidor de Ppép1 sobre el la expresión de proteína de citocina. Tal como se muestra en la Tabla 5, a continuación, la estimulación de las células con LPS

aumentó la expresión de citocinas; HMGB1, TNF- α y COX. Sin embargo, si las células se trataban con LPS y P ϵ p1, el nivel de expresión de citocinas proinflamatorias mencionado anteriormente se reducía. El resultado que muestra que el tratamiento con P ϵ p1 redujo los niveles de citocina proinflamatoria en más del 70 % proporciona una fuerte evidencia que mantiene el efecto antiinflamatorio de P ϵ p1.

5 **Tabla 5. La medición del efecto inhibitor de P ϵ p1 sobre el nivel de expresión de citocina proinflamatoria.**

Muestra de ensayo		Nivel de control de expresión de citocina (intensidad de banda) %		
		HMGB1	TNF- α	COX-2
PBS		-	-	-
1 μ g/ml de LPS	PBS	100	100	100
	PEP 1 (5 μ g/ml)	30	25	22

Ejemplo 2

Efecto inhibitor de TNF- α de los péptidos de la serie PEP RIA (SEQ ID NO: 1 a 161)

Basándose en los resultados del Ejemplo 1 en el que la SEQ ID NO:1 (PEP1) tiene el efecto inhibitor de TNF- α , se llevó a cabo un experimento usando los péptidos de las SEQ ID NO:1 a 161 para confirmar su efecto inhibitor de TNF- α . La síntesis de péptidos de la SEQ ID NO:1 a 161 usó el mismo procedimiento mencionado anteriormente en el Ejemplo 1 (procedimiento usado para la síntesis de PEP1), pero los aminoácidos añadidos eran diferentes.

Experimento 1: cultivo celular

La capa de PBMC (células mononucleares de la sangre periférica) se separó de las muestras de sangre (50 ml) recolectadas en sujetos sanos usando la solución de separación Biocoll (Biochrom AG, Berlín, Alemania). Las PBMC recolectadas se enriquecieron en medio RPMI 1640 que contiene suero humano al 20 % durante 30 minutos, y después se transfirieron a una placa de cultivo celular de poliestireno de 100 mm recubierta con suero humano para incubación durante 2 horas a 37 °C, en incubador con CO₂ al 5 %. Los monocitos se desprendieron de la parte inferior de la placa usando PBS frío y se incubaron hasta alcanzar el número de 1 x 10⁵ células/pocillo en placas de 96 pocillos con medio RPMI 1640 (suplementado con penicilina-estreptomicina; 100 mg/ml, suero humano; 20 %) toda la noche.

Experimento 2: Análisis del efecto inhibitor de TNF- α en monocitos que derivan de PBMC

Se realizó un ELISA para averiguar cómo influyen los péptidos de la serie PEP RIA en el nivel de TNF- α . Los monocitos que derivan de PBMC se incubaron hasta alcanzar el número de 1 x 10⁵ células por pocillo en una placa de 96 pocillos y después se trataron con LPS (lipopolisacárido; 10 ng/ml, Sigma) durante 2 horas. Para los monocitos que se lavaron tres veces con PBS, se añadió medio de cultivo OPTI-MEM para inducir la inanición de las células durante una hora, se extrajeron 4 μ M del péptido y se incubaron durante 2 horas. Hubo tres grupos de control negativo. El primer grupo no se trató con nada. El segundo grupo se trató con estrógeno (en este experimento, se usó el estradiol como un tipo de estrógeno). El tercer grupo se trató con LPS (10 ng/ml) o con LPS (10 ng/ml) así como con estrógeno (20 nM). Se usó el PEP1 que fue confirmado que tenía actividad inhibitora de TNF- α como un control positivo para medir la actividad de inhibición de TNF- α . Después de la incubación, se midió el TNF- α siguiendo el manual del kit de ELISA (R&D, Minneapolis, MN, EE.UU.). Los detalles del procedimiento de cuantificación se pueden hallar en el Experimento 2.2 del Ejemplo 1.

Usando el procedimiento indicado anteriormente, se seleccionaron sistemáticamente los péptidos con efecto inhibitor de TNF- α . Los monocitos que derivan de PBMC se estimularon con LPS (10 ng/ml), que es endotoxina, durante 2 horas y se indujo inanición añadiendo OPTI-MEM durante 1 hora. Después de esto, se trataron 4 μ M de 161 péptidos y se incubaron durante 2 horas. Se midió la cantidad de TNF- α en el medio de cultivo celular usando ELISA, y se seleccionaron sistemáticamente los péptidos con efecto inhibitor de TNF- α mediante comparación en los controles negativo y positivo (FIG. 1 a FIG. 16).

Lo siguiente son los péptidos que mostraron efecto inhibitor de TNF- α cuando se compararon con el grupo de control que se trató con solo LPS: SEQ ID NO:1 a SEQ ID NO:6, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 14 a 21, SEQ ID NO:23 a SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:39 a SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:47 a SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:55 a SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63 a SEQ ID NO:82, SEQ ID NO:84 a SEQ ID NO:94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 99 a SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO:107 a SEQ ID NO:109, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO:120 a SEQ ID NO:122, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO:129 a SEQ ID NO:133, SEQ ID NO:142 a SEQ ID NO:144, SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO:149, y SEQ ID NO:155 a SEQ ID NO:159.

Además, lo siguiente son los péptidos que mostraron efecto inhibitor de TNF- α cuando se compararon con el grupo de que se trató con LPS y estrógeno: SEQ ID NO:15 a SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:23 a SEQ ID NO:27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO:31 a SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:39 a SEQ ID NO:41, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO:51 a SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:55 a SEQ ID NO:58, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO:65 a SEQ ID NO:68, SEQ ID

NO: 70, SEQ ID NO:73 a SEQ ID NO:79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO:84 a SEQ ID NO:87, SEQ ID NO:8=90 a SEQ ID NO:94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO:101 a SEQ ID NO:104, SEQ ID NO:107 a SEQ ID NO:109, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO:129 a SEQ ID NO:132, SEQ ID NO:142 a SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO:149, y SEQ ID NO:157 a SEQ ID NO:159.

5 Experimento 3: Análisis de péptidos que afectan al nivel de TNF- α en la línea celular THP1

El experimento se llevó a cabo usando la línea celular THP-1 (American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, VA, EE.UU.) que es de leucemia monocítica aguda.

10 Las células THP-1 se incubaron hasta alcanzar el número de 1×10^5 células por pocillo en una placa de 96 pocillos con medio RPMI 1640 durante 24 horas, seguido por la adición de 100 μ M de PMA (forbol-12-miristato 13-acetato) para la diferenciación en macrófagos. Tras la diferenciación de THP-1 en macrófagos mediante PMA durante un día, se trató con LPS durante 2 horas y se lavó. Después siguió la inanición durante una hora y el tratamiento con PEP1.

15 Las células THP-1 diferenciadas mediante PMA se trataron con LPS (lipopolisacárido; 10 ng/ml, Sigma) durante 2 horas, seguido por 2 veces de lavado con PBS. A las células se les añadió medio de cultivo OPTI-MEM para inducir la inanición de las células durante una hora, y se extrajo 1 μ M de 161 péptidos y se incubó durante una hora. Después de la incubación, se midió el nivel de TNF- α usando el kit de ELISA y se seleccionaron sistemáticamente los péptidos que reducen el nivel de TNF- α (FIG. 17 a FIG. 35).

20 Como resultado, los péptidos de la SEQ ID NO:1 a SEQ ID NO:5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO:17 a SEQ ID NO:27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO:32 a SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:55 a SEQ ID NO:60, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO:72 a SEQ ID NO:82, SEQ ID NO:84 a SEQ ID NO:92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO:99 a SEQ ID NO:112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO:127 a SEQ ID NO:144, SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 149, SEQ ID NO:151 y SEQ ID NO:153 a SEQ ID NO:161 parecieron reducir el nivel de TNF- α en comparación con el grupo de control tratado solo con LPS.

25 Además, SEQ ID NO:1 a SEQ ID NO:5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO:17 a SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:25 a SEQ ID NO:27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO:33 a SEQ ID NO:43, SEQ ID NO: 156, SEQ ID NO:157 y SEQ ID NO:159 se seleccionaron como péptidos que reducen el nivel de expresión de TNF- α en comparación con el del grupo tratado con LPS y estrógeno.

Ejemplo 3

Efectos de los péptidos (SEQ ID NO:1 a 161) sobre la inflamación por proteína β -amiloide

30 La HMGB1 primero se somete a acetilación y translocación al citoplasma mediante estimulación externa. Después se secreta fuera de la célula, cumpliendo, por lo tanto, el papel de citocina causante de la inflamación. Dado que cuando se tiene una inflamación debido a tal actividad, la proteína HMGB1 se secreta desde la célula, y los pacientes con enfermedades inflamatorias tales como síndrome de Churg-Strauss, artritis reumatoide y síndrome de Sjogren presentarán elevados niveles séricos de HMGB1. Por lo tanto, si el núcleo contiene grandes cantidades de HGMB1 incluso cuando hay un estímulo que provoca la inflamación, es sugerente del hecho de que HMGB1 no se está secretando fuera de la célula, lo que significa que se está suprimiendo la inflamación.

Experimento 1. Cultivo celular

40 Las células PC12 no diferenciadas (ATCC, Rockville, MD, EE.UU.) se mantuvieron en crecimiento de fase logarítmica en placas de poli-l-lisina (Sigma, Saint Louis, MO, USA) de 100 mm precubiertas (Corning, PA, EE.UU.) en medio RPMI 1640 (GIBCO, Grand Island, NY, EE.UU.) que contienen suero de caballo al 10 % inactivado por calor, suero bovino fetal al 5 % inactivado por calor, 100 unidades/ml de penicilina y 100 g/ml de estreptomina. Los cultivos se incubaron a 37 °C en una atmósfera húmeda con CO₂ al 5 %. Los cultivos se cultivaron hasta una confluencia del 50 % y se recolectaron en solución salina equilibrada de Hank sin Ca²⁺/Mg²⁺ que contiene EDTA 1 mM. Las células se colocaron a una densidad de 1×10^5 células/placa de 100 mm y se incubaron durante 24 horas.

45 Para la diferenciación neuronal, las células PC12 se sometieron a inanición de suero durante 12 horas (medio RPMI 1640 que contiene 100 unidades/ml de penicilina y 100 g/ml de estreptomina sin suero de caballo o suero bovino fetal); después, las células se mantuvieron en medio sin suero. Después de dos días, se reemplazó el medio con medio reciente sin suero. En el día tres, se añadió NGF (50 ng/ml, Sigma, Saint Louis, MO, EE.UU.) al medio, y los cultivos se mantuvieron durante tres días adicionales. Tras la diferenciación, las células nPC12 se incubaron con β -amiloide 20 μ M con varias concentraciones de los péptidos [0 (control), 1, 10 y 50 μ M] durante 48 horas.

Experimento 2. Análisis por transferencia de Western

55 Los niveles de HMGB1 se analizaron mediante análisis por transferencia de Western. Brevemente, se lavaron 5×10^6 células dos veces en PBS frío, se incubaron en hielo durante 10 minutos en tampón de lisis [Tris 50 mM (a pH 8,0), NaCl 150 mM, azida de sodio al 0,02 %, SDS al 0,2 %, 100 μ g/ml de fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF), 50 μ l/ml de aprotinina, Igepal 630 al 1 %, NaF 100 mM, desoxicolato de sodio al 0,5 %, EDTA 0,5 mM, EGTA 0,1 mM];

5 las células y los núcleos no fragmentados se sedimentaron mediante centrifugación durante 10 minutos a 2000 x g y se aclararon los lisados mediante centrifugación a 10.000 x g. Los anticuerpos usados fueron: anti-HMGB1 (1:1000, Cell Signaling, Beverly, MA, EE.UU) y anti-β-tubulina (1:1000, Cell Signaling, Beverly, MA, EE.UU.). Las membranas se lavaron con solución salina tamponada con Tris que contiene Tween-20 (TBST) al 0,05 %, y después se procesaron usando anticuerpo anticonejo conjugado con HRP (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ, EE.UU.) seguid por detección de ECL (Amersham Pharmacia Biotech,). Las transferencias se cuantificaron con un analizador de imágenes (GE Healthcare, ImageQuant LAS 4000).

10 Como resultado del análisis por transferencia de Western, se seleccionaron los péptidos que presentan una acumulación de HGMB1 dentro de la célula. Las FIG. 36 a 108 son los resultados de los análisis por transferencia de western de los péptidos seleccionados. Las tubulinas en estas figuras se usan para confirmar la expresión de proteínas. Las secuencias de los péptidos seleccionados son como sigue:

15 SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 125, SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 151, SEQ ID NO: 154 y SEQ ID NO: 156.

LISTADO DE SECUENCIAS

25 <110> KAEL-GemVax Co., Ltd. GemVax AS KIM, Sangjae
 <120> PÉPTIDOS ANTIINFLAMATORIOS Y COMPOSICIÓN QUE COMPRENDE A LOS MISMOS
 <130> 19619PCT00
 <150> KR 10-2012-0079096
 <151> 20/07/2012
 30 <150> KR 10-2012-0089161
 <151> 14/08/2012
 <150> KR 10-2012-0089162
 <151> 14/08/2012
 <150> KR 10-2012-0089167
 <151> 14/08/2012
 35 <150> KR 10-2012-0104144
 <151> 19/09/2012
 <150> KR 10-2012-0104207
 <151> 19/09/2012
 <160> 163
 40 <170> PatentIn versión 3.5
 <210> 1
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 45 <400> 1
 Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu
 1 5 10 15
 Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg Ala
 20 25 30
 <210> 2

ES 2 693 321 T3

<211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 2
 5 Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly
 1 5 10 15
 <210> 3
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 10 <400> 3
 Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu
 1 5 10
 <210> 4
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 15 <400> 4
 Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
 1 5 10
 <210> 5
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 20 <400> 5
 Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu
 1 5
 <210> 6
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25 <400> 6
 Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu
 1 5
 <210> 7
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30 <400> 7
 Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro Glu
 1 5 10 15
 <210> 8
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40 <400> 8
 Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr
 1 5 10 15

ES 2 693 321 T3

<210> 9
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5 <400> 9
 Ala Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu
 1 5 10 15

 <210> 10
 <211> 9
 <212> PRT
 10 <213> Homo sapiens

 <400> 10
 Tyr Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu
 1 5

 <210> 11
 <211> 9
 <212> PRT
 15 <213> Homo sapiens

 <400> 11
 Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu
 1 5

 <210> 12
 <211> 10
 <212> PRT
 20 <213> Homo sapiens

 <400> 12
 Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg Ala
 1 5 10

 <210> 13
 <211> 10
 <212> PRT
 25 <213> Homo sapiens

 <400> 13
 Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile
 1 5 10

 <210> 14
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35 <400> 14
 Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg
 1 5 10

 <210> 15
 <211> 10
 <212> PRT
 40 <213> Homo sapiens

 <400> 15

ES 2 693 321 T3

Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg
1 5 10

5 <210> 16
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 16

Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg
1 5 10

10 <210> 17
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 17

Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg
1 5 10

15 <210> 18
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 18

Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu
1 5 10

20 <210> 19
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 19

Tyr Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu
1 5 10

25 <210> 20
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens
30 <400> 20

Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu
1 5 10

35 <210> 21
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 21

Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu
1 5

40 <210> 22
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

ES 2 693 321 T3

<400> 22

Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg
1 5

<210> 23

<211> 9

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg
1 5

<210> 24

10 <211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg
1 5

<210> 25

15 <211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala
1 5

<210> 26

20 <211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu
1 5

<210> 27

30 <211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser
1 5

<210> 28

35 <211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu
1 5

ES 2 693 321 T3

<210> 29
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens
5 <400> 29

Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly
1 5

<210> 30
<211> 9
<212> PRT
10 <213> Homo sapiens

<400> 30

Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His
1 5

<210> 31
<211> 8
15 <212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 31

Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu
1 5

<210> 32
<211> 8
20 <212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 32

Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly
1 5

<210> 33
<211> 8
25 <212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 33

Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu
1 5

<210> 34
<211> 8
35 <212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 34

Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu
1 5

<210> 35
<211> 8
40 <212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 35

ES 2 693 321 T3

Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu
1 5

5 <210> 36
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 36

Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr Arg
1 5 10 15

10 <210> 37
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 37

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

15 <210> 38
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 38

Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His Leu Lys Arg Val Gln
1 5 10 15

20 <210> 39
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 39

Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu
1 5 10 15

25 <210> 40
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 40

Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro
1 5 10 15

30 <210> 41
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 41

Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp
1 5 10 15

35 <210> 42
<211> 15
<212> PRT

40

ES 2 693 321 T3

<213> Homo sapiens

<400> 42

Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser Arg
1 5 10 15

<210> 43

5

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 43

Leu Asp Asp Ile His Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val
1 5 10 15

10

<210> 44

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu Tyr
1 5 10 15

15

<210> 45

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20

<400> 45

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

<210> 46

<211> 15

<212> PRT

25

<213> Homo sapiens

<400> 46

Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His
1 5 10 15

<210> 47

30

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 47

Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln
1 5 10 15

35

<210> 48

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 48

ES 2 693 321 T3

Met Pro Arg Ala Pro Arg Cys Arg Ala Val Arg Ser Leu Leu Arg Ser
 1 5 10 15

His Tyr Arg Glu
 20

5 <210> 49
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 49

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

Arg Leu Val Gln
 20

10 <210> 50
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 50

Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val
 1 5 10 15

Cys Val Pro Trp
 20

15 <210> 51
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 51

Asp Ala Arg Pro Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser Cys
 1 5 10 15

Leu Lys Glu Leu
 20

20 <210> 52
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 52

Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val
 1 5 10 15

25 Leu Ala Phe Gly
 20

<210> 53
 <211> 20

ES 2 693 321 T3

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 53

Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro Glu Ala Phe Thr
1 5 10 15

Thr Ser Val Arg
20

5 <210> 54
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 54

Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala
1 5 10 15

Trp Gly Leu Leu
20

10 <210> 55
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 55

Leu Arg Arg Val Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg Cys
1 5 10 15

Ala Leu Phe Val
20

20 <210> 56
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 56

Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr
1 5 10 15

Gln Leu Gly Ala
20

25 <210> 57
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 57

ES 2 693 321 T3

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

Leu Gly Cys Glu
 20

5 <210> 58
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 58

Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu
 1 5 10 15

Pro Ala Pro Gly
 20

10 <210> 59
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 59

Ala Arg Arg Arg Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro Lys
 1 5 10 15

Arg Pro Arg Arg
 20

15 <210> 60
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 60

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

Ala His Pro Gly
 20

20 <210> 61
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 61

Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val Val Ser Pro Ala
 1 5 10 15

Arg Pro Ala Glu
 20

25

ES 2 693 321 T3

<210> 62
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5 <400> 62

Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His
 1 5 10 15

Pro Ser Val Gly
 20

<210> 63
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <400> 63

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

Trp Asp Thr Pro
 20

<210> 64
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15 <400> 64

Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly
 1 5 10 15

Asp Lys Glu Gln
 20

<210> 65
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20 <400> 65

Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ser Leu Thr Gly
 1 5 10 15

Ala Arg Arg Leu
 20

<210> 66
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

25 <400> 66

ES 2 693 321 T3

Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro
 1 5 10 15

Arg Arg Leu Pro
 20

5 <210> 67
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 67

Arg Leu Pro Gln Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu
 1 5 10 15

Leu Gly Asn His
 20

10 <210> 68
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 68

Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg
 1 5 10 15

Ala Ala Val Thr
 20

15 <210> 69
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 69

Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln Gly Ser Val Ala
 1 5 10 15

Ala Pro Glu Glu
 20

20 <210> 70
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 70

Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser
 1 5 10 15

25 Ser Pro Trp Gln
 20

<210> 71
 <211> 20
 <212> PRT

ES 2 693 321 T3

<213> Homo sapiens

<400> 71

Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly
 1 5 10 15

Leu Trp Gly Ser
 20

5 <210> 72
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 72

Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser
 1 5 10 15

Leu Gly Lys His
 20

10 <210> 73
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 73

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

Cys Ala Trp Leu
 20

15 <210> 74
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 74

Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu
 1 5 10 15

Arg Glu Glu Ile
 20

25 <210> 75
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 75

ES 2 693 321 T3

Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu
 1 5 10 15

Leu Arg Ser Phe
 20

5 <210> 76
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 76

Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr
 1 5 10 15

Arg Lys Ser Val
 20

10 <210> 77
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 77

Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His Leu Lys Arg Val
 1 5 10 15

Gln Leu Arg Glu
 20

15 <210> 78
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 78

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

Leu Thr Ser Arg
 20

20 <210> 79
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 79

Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met
 1 5 10 15

25 Asp Tyr Val Val
 20

<210> 80
 <211> 20

ES 2 693 321 T3

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 80

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

Arg Val Lys Ala
20

5 <210> 81
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 81

Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu
1 5 10 15

Gly Ala Ser Val
20

10 <210> 82
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

15 <400> 82

Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg

1 5 10 15

Val Arg Ala Gln
20

20 <210> 83
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 83

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

Tyr Asp Thr Ile
20

25 <210> 84
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 84

ES 2 693 321 T3

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

Asn Thr Tyr Cys
 20

5 <210> 85
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 85

Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His Gly His Val Arg
 1 5 10 15

Lys Ala Phe Lys
 20

10 <210> 86
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 86

Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe
 1 5 10 15

Val Ala His Leu
 20

15 <210> 87
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 87

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

Ser Leu Asn Glu
 20

20 <210> 88
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 88

Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His
 1 5 10 15

Ala Val Arg Ile
 20

25 <210> 89
 <211> 20

ES 2 693 321 T3

<212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 89

Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ile
 1 5 10 15

Leu Ser Thr Leu
 20

5 <210> 90
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 90

Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly
 1 5 10 15

Ile Arg Arg Asp
 20

10 <210> 91
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 91

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

Leu Thr His Ala
 20

20 <210> 92
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 92

Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys
 1 5 10 15

Val Val Asn Leu
 20

25 <210> 93
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 93

ES 2 693 321 T3

Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu Ala Leu Gly Gly
 1 5 10 15

Thr Ala Phe Val
 20

5 <210> 94
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 94

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

Thr Arg Thr Leu
 20

10 <210> 95
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 95

Glu Val Gln Ser Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala
 1 5 10 15

Ser Leu Thr Phe
 20

15 <210> 96
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 96

Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly
 1 5 10 15

Val Leu Arg Leu
 20

20 <210> 97
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 97

Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln Thr
 1 5 10 15

25 Val Cys Thr Asn
 20

<210> 98
 <211> 20

ES 2 693 321 T3

<212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 98

Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val
 1 5 10 15
 Leu Gln Leu Pro
 20

5 <210> 99
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 99

Phe His Gln Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile
 1 5 10 15
 Ser Asp Thr Ala
 20

10 <210> 100
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 15 <400> 100

Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu
 1 5 10 15
 Gly Ala Lys Gly
 20

20 <210> 101
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 101

Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln
 1 5 10 15
 Ala Phe Leu Leu
 20

25 <210> 102
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 102

ES 2 693 321 T3

Lys Leu Thr Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu
 1 5 10 15

Arg Thr Ala Gln
 20

5 <210> 103
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 103

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

Ala Ala Ala Asn
 20

10 <210> 104
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 104

Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu Asp
 1 5 10

15 <210> 105
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 105

Met Pro Arg Ala Pro Arg Cys Arg Ala Val
 1 5 10

20 <210> 106
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25 <400> 106

Arg Ser Leu Leu Arg Ser His Tyr Arg Glu Val Leu Pro Leu Ala Thr
 1 5 10 15

Phe Val Arg Arg
 20

30 <210> 107
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 107

ES 2 693 321 T3

Leu Gly Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala
 1 5 10 15

Phe Arg Ala Leu
 20

5 <210> 108
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 108

Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro Pro Pro
 1 5 10 15

Ala Ala Pro Ser
 20

10 <210> 109
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 109

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

Arg Leu Cys Glu
 20

15 <210> 110
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 110

Arg Gly Ala Lys Asn Val Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly
 1 5 10 15

Ala Arg Gly Gly
 20

20 <210> 111
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 111

Pro Pro Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr
 1 5 10 15

25 Val Thr Asp Ala
 20

<210> 112
 <211> 20

ES 2 693 321 T3

<212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 112

Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val Gly Asp
 1 5 10 15
 Asp Val Leu Val
 20

5 <210> 113
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 113

His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val Leu Val Ala Pro Ser Cys
 1 5 10 15
 Ala Tyr Gln Val
 20

10 <210> 114
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15 <400> 114

Cys Gly Pro Pro Leu Tyr Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro
 1 5 10 15
 Pro Pro His Ala
 20

20 <210> 115
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 115

Ser Gly Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp Asn His Ser
 1 5 10 15
 Val Arg Glu Ala
 20

25 <210> 116
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 116

Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg Gly Gly
 1 5 10 15

ES 2 693 321 T3

Ser Ala Ser Arg
20

5 <210> 117
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 117

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

Glu Arg Thr Pro
20

10 <210> 118
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 118

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

Asp Arg Gly Phe
20

15 <210> 119
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 119

Cys Val Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu
1 5 10 15

Gly Ala Leu Ser
20

20 <210> 120
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 120

Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His Ala Gly
1 5 10 15

Pro Pro Ser Thr
20

25 <210> 121
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens
30 <400> 121

ES 2 693 321 T3

Ser Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro Cys Pro Pro Val Tyr Ala
 1 5 10 15

Glu Thr Lys His
 20

5 <210> 122
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 122

Phe Leu Tyr Ser Ser Gly Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu
 1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu
 20

10 <210> 123
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 123

Arg Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu
 1 5 10 15

Gly Ser Arg Pro
 20

15 <210> 124
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 124

Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln Arg Tyr
 1 5 10 15

Trp Gln Met Arg
 20

20 <210> 125
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 125

Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His Ala Gln Cys Pro Tyr Gly
 1 5 10 15

Val Leu Leu Lys
 20

25 <210> 126
 <211> 20

ES 2 693 321 T3

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 126

Thr His Cys Pro Leu Arg Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys
1 5 10 15

Ala Arg Glu Lys
20

5 <210> 127
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 127

Pro Gln Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg
1 5 10 15

Arg Leu Val Gln
20

10 <210> 128
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 128

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

Ala Cys Leu Arg
20

20 <210> 129
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 129

Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser Arg His Asn Glu Arg Arg
1 5 10 15

Phe Leu Arg Asn
20

25 <210> 130
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 130

ES 2 693 321 T3

Thr Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln
 1 5 10 15

Glu Leu Thr Trp
 20

5 <210> 131
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 131

Lys Met Ser Val Arg Asp Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val
 1 5 10 15

Gly Cys Val Pro
 20

10 <210> 132
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 132

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

Trp Leu Met Ser
 20

15 <210> 133
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 133

Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Val Thr Glu Thr
 1 5 10 15

Thr Phe Gln Lys
 20

20 <210> 134
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 134

Asn Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser
 1 5 10 15

25 Ile Gly Ile Arg
 20

<210> 135
 <211> 20

ES 2 693 321 T3

<212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 135

Gln His Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val
 1 5 10 15

Arg Gln His Arg
 20

5 <210> 136
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 136

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

Pro Asp Gly Leu
 20

10 <210> 137
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15 <400> 137

Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val Gly Ala Arg Thr Phe Arg
 1 5 10 15

Arg Glu Lys Arg
 20

20 <210> 138
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 138

Ala Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn
 1 5 10 15

Tyr Glu Arg Ala
 20

25 <210> 139
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 139

ES 2 693 321 T3

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

His Arg Ala Trp
 20

5 <210> 140
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 140

Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu
 1 5 10 15

Tyr Phe Val Lys
 20

10 <210> 141
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 141

Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile Pro Gln Asp Arg Leu Thr
 1 5 10 15

Glu Val Ile Ala
 20

15 <210> 142
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 142

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

Val Gln Lys Ala
 20

20 <210> 143
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 143

Ala His Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu
 1 5 10 15

25 Thr Asp Leu Gln
 20

<210> 144
 <211> 20

ES 2 693 321 T3

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 144

Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser Pro Leu
1 5 10 15

Arg Asp Ala Val
20

5 <210> 145
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 145

Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu Ala Ser Ser Gly Leu Phe
1 5 10 15

Asp Val Phe Leu
20

10 <210> 146
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 146

Arg Phe Met Cys His His Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val
1 5 10 15

Gln Cys Gln Gly
20

20 <210> 147
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 147

Ile Pro Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr
1 5 10 15

Gly Asp Met Glu
20

25 <210> 148
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 148

ES 2 693 321 T3

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

Val Asp Asp Phe
 20

5 <210> 149
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 149

Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala Lys Thr Phe Leu Arg Thr
 1 5 10 15

Leu Val Arg Gly
 20

10 <210> 150
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 150

Val Pro Glu Tyr Gly Cys Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn
 1 5 10 15

Phe Pro Val Glu
 20

15 <210> 151
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 151

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

Leu Phe Pro Trp
 20

20 <210> 152
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 152

Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser Asp Tyr
 1 5 10 15

Ser Ser Tyr Ala
 20

25 <210> 153
 <211> 20

ES 2 693 321 T3

<212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 153

Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe Asn Arg Gly Phe Lys Ala
 1 5 10 15

Gly Arg Asn Met
 20

5 <210> 154
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 154

Arg Arg Lys Leu Phe Gly Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe
 1 5 10 15

Leu Asp Leu Gln
 20

10 <210> 155
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15 <400> 155

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

Leu Gln Ala Tyr
 20

20 <210> 156
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 156

Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln Val Trp
 1 5 10 15

Lys Asn Pro Thr
 20

25 <210> 157
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 157

ES 2 693 321 T3

Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile
 1 5 10 15

Leu Lys Ala Lys
 20

5 <210> 158
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 158

Asn Ala Gly Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro
 1 5 10 15

Ser Glu Ala Val
 20

10 <210> 159
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 159

Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg
 1 5 10 15

Val Thr Tyr Val
 20

15 <210> 160
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 160

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

Leu Pro Gly Thr
 20

20 <210> 161
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 161

Thr Leu Thr Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp
 1 5 10 15

Phe Lys Thr Ile Leu Asp
 20

25 <210> 162
 <211> 1132
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30 <400> 162

ES 2 693 321 T3

Met Pro Arg Ala Pro Arg Cys Arg Ala Val Arg Ser Leu Leu Arg Ser
1 5 10 15

His Tyr Arg Glu Val Leu Pro Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly
20 25 30

Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg
35 40 45

Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro
50 55 60

Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu
65 70 75 80

Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val
85 90 95

Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro
100 105 110

Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr
115 120 125

Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val
130 135 140

Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val
145 150 155 160

Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr
165 170 175

Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser Gly
180 185 190

Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg
195 200 205

Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg
210 215 220

Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg
225 230 235 240

Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp
245 250 255

Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val
260 265 270

Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala

ES 2 693 321 T3

	275		280		285														
Leu	Ser	Gly	Thr	Arg	His	Ser	His	Pro	Ser	Val	Gly	Arg	Gln	His	His				
	290					295					300								
Ala	Gly	Pro	Pro	Ser	Thr	Ser	Arg	Pro	Pro	Arg	Pro	Trp	Asp	Thr	Pro				
305					310					315					320				
Cys	Pro	Pro	Val	Tyr	Ala	Glu	Thr	Lys	His	Phe	Leu	Tyr	Ser	Ser	Gly				
				325					330					335					
Asp	Lys	Glu	Gln	Leu	Arg	Pro	Ser	Phe	Leu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Pro				
			340					345					350						
Ser	Leu	Thr	Gly	Ala	Arg	Arg	Leu	Val	Glu	Thr	Ile	Phe	Leu	Gly	Ser				
		355					360					365							
Arg	Pro	Trp	Met	Pro	Gly	Thr	Pro	Arg	Arg	Leu	Pro	Arg	Leu	Pro	Gln				
	370					375					380								
Arg	Tyr	Trp	Gln	Met	Arg	Pro	Leu	Phe	Leu	Glu	Leu	Leu	Gly	Asn	His				
385					390					395					400				
Ala	Gln	Cys	Pro	Tyr	Gly	Val	Leu	Leu	Lys	Thr	His	Cys	Pro	Leu	Arg				
				405					410					415					
Ala	Ala	Val	Thr	Pro	Ala	Ala	Gly	Val	Cys	Ala	Arg	Glu	Lys	Pro	Gln				
			420					425					430						
Gly	Ser	Val	Ala	Ala	Pro	Glu	Glu	Glu	Asp	Thr	Asp	Pro	Arg	Arg	Leu				
		435					440					445							
Val	Gln	Leu	Leu	Arg	Gln	His	Ser	Ser	Pro	Trp	Gln	Val	Tyr	Gly	Phe				
	450					455					460								
Val	Arg	Ala	Cys	Leu	Arg	Arg	Leu	Val	Pro	Pro	Gly	Leu	Trp	Gly	Ser				
465					470					475					480				
Arg	His	Asn	Glu	Arg	Arg	Phe	Leu	Arg	Asn	Thr	Lys	Lys	Phe	Ile	Ser				
				485					490					495					
Leu	Gly	Lys	His	Ala	Lys	Leu	Ser	Leu	Gln	Glu	Leu	Thr	Trp	Lys	Met				
			500					505					510						
Ser	Val	Arg	Asp	Cys	Ala	Trp	Leu	Arg	Arg	Ser	Pro	Gly	Val	Gly	Cys				
		515					520					525							

ES 2 693 321 T3

Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe
530 535 540

Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe
545 550 555 560

Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr
565 570 575

Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His
580 585 590

Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln
595 600 605

His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
610 615 620

Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val
625 630 635 640

Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser
645 650 655

Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg
660 665 670

Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg
675 680 685

Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro
690 695 700

Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile
705 710 715 720

Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln
725 730 735

Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His
740 745 750

Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp
755 760 765

Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser
770 775 780

ES 2 693 321 T3

Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu
 785 790 795 800
 Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His
 805 810 815
 Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro
 820 825 830
 Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp
 835 840 845
 Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu
 850 855 860
 Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala
 865 870 875 880
 Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys
 885 890 895
 Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu
 900 905 910
 Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe
 915 920 925
 Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser
 930 935 940
 Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe
 945 950 955 960
 Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly
 965 970 975
 Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn
 980 985 990
 Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln
 995 1000 1005
 Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln
 1010 1015 1020
 Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp
 1025 1030 1035

ES 2 693 321 T3

Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly
 1040 1045 1050

Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu
 1055 1060 1065

Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr
 1070 1075 1080

Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr
 1085 1090 1095

Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr
 1100 1105 1110

Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys
 1115 1120 1125

Thr Ile Leu Asp
 1130

- <210> 163
- <211> 16
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens

5

<400> 163

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

REIVINDICACIONES

1. Un péptido con actividad antiinflamatoria, en el que el péptido se selecciona del grupo que consiste en las SEQ ID NO:101 y 158.
2. El péptido de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el péptido se origina a partir de la telomerasa humana.
- 5 3. Un polinucleótido que codifica un péptido seleccionado del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 101 y 158.
4. Una composición antiinflamatoria que comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en las SEQ ID NO:101 y 158 como un principio activo.
5. La composición antiinflamatoria de acuerdo con la reivindicación 4, para su uso en un procedimiento de tratamiento o profilaxis de una enfermedad inflamatoria, en la que la composición es una composición farmacéutica.
- 10 6. La composición antiinflamatoria de acuerdo con la reivindicación 4, para su uso en un procedimiento para mejorar o prevenir inflamación de la piel, en la que la composición es una composición de cosmético.
7. La composición antiinflamatoria de acuerdo con la reivindicación 4, para su uso en un procedimiento de tratamiento o profilaxis de la inflamación, en la que la composición es una composición alimenticia.
- 15 8. La composición antiinflamatoria de acuerdo con la reivindicación 4, para su uso en un procedimiento de tratamiento o profilaxis de una enfermedad inflamatoria seleccionada del grupo que consiste en (1) enfermedad inflamatoria general o localizada (por ejemplo, alergias; enfermedad por inmunocomplejo; fiebre del heno; choque hipersensible; choque por endotoxina; caquexia, hipertermia; granulomatosis; o sarcoidosis); (2) enfermedades relacionadas con el aparato digestivo (por ejemplo, apendicitis; úlcera gástrica; úlcera duodenal; peritonitis; pancreatitis; colitis ulcerosa, aguda o isquémica; colangitis; colecistitis, esteatorrea, hepatitis, enfermedad de Crohn; o enfermedad de Whipple); (3) enfermedades relacionadas con la piel (por ejemplo, psoriasis; quemaduras; quemaduras solares; dermatitis; verrugas urticantes o habones); (4) enfermedades relacionadas con el sistema vascular (por ejemplo, angiitis; vasculitis; endocarditis; arteritis; aterosclerosis; tromboflebitis; pericarditis; insuficiencia cardíaca congestiva; miocarditis; isquemia miocárdica; periarteritis nodosa; estenosis recurrente; enfermedad de Buerger; o fiebre reumática); (5) enfermedades respiratorias (por ejemplo, asma; epiglotitis; bronquitis; enfisema; rinitis; fibrosis quística; neumonitis intersticial; enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC); síndrome de distrés respiratorio del adulto; coniosis; alveolitis; bronquiolitis; faringitis; pleuritis; o sinusitis); (6) enfermedades relacionadas con los huesos, articulaciones, músculos y tejidos conectivos (por ejemplo, granuloma eosinófilo; artritis; artralgia; osteomielitis; dermatomiositis; fascitis; enfermedad de Paget; gota; periodontitis; artritis reumatoide; miastenia grave; espondilitis anquilosante; o sinovitis); (7) trastornos urogenitales (por ejemplo, epididimitis; vaginitis; prostatitis; o uretritis); (8) enfermedades relacionadas con el sistema nervioso central o periférico (por ejemplo, enfermedad de Alzheimer; meningitis; encefalitis; esclerosis múltiple; infarto cerebral; embolia cerebral; síndrome de Guillain-Barre; neuritis; neuralgia; lesión de la médula espinal; parálisis; o uveítis); (9) enfermedades infecciosas por virus (por ejemplo, virus de la gripe; virus respiratorio sincicial; VIH; virus de la hepatitis B; de hepatitis C; o virus herpes) (por ejemplo, fiebre del dengue; o septicemia), infección fúngica (por ejemplo, candidiasis); o bacteriana, por parásitos, e infecciones microbianas similares (por ejemplo, bacteriemia diseminada; malaria; oncocercosis; o amebiasis); (10) enfermedades autoinmunes (por ejemplo, tiroiditis; lupus; síndrome de Goodpasture; rechazo a aloinjerto; enfermedad de injerto frente a huésped; o diabetes); y (11) cáncer o enfermedad tumoral (por ejemplo, linfoma de Hodgkin).
- 20 25 30 35 40 9. Un kit para la profilaxis o el tratamiento de enfermedades inflamatorias que comprenden: un péptido seleccionado del grupo que consiste en las SEQ ID NO:101 y 158.

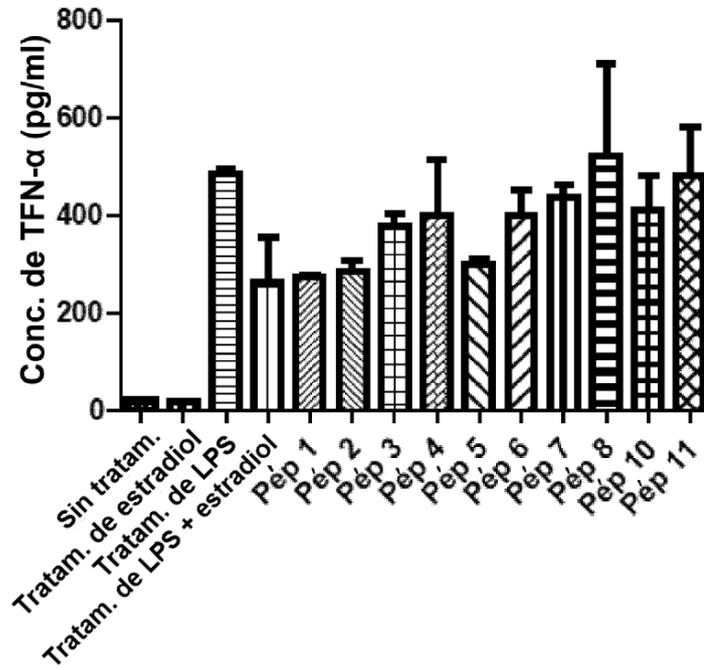


FIG.1

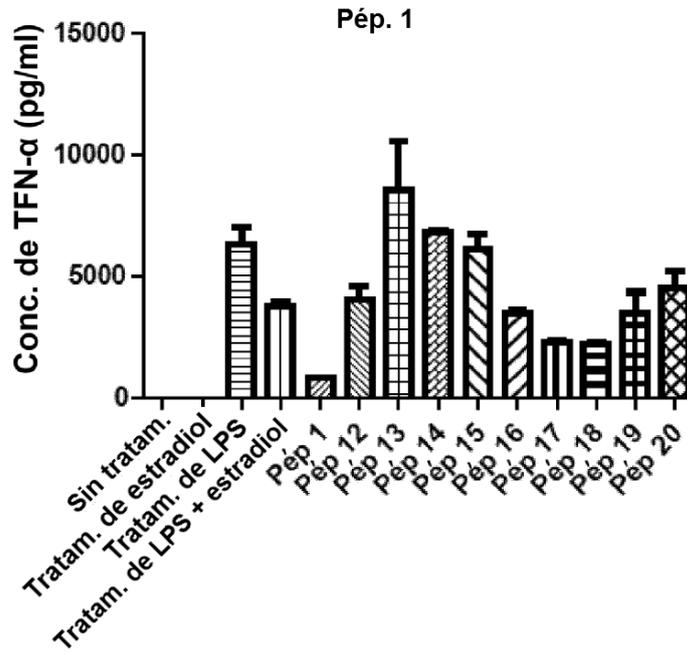


FIG.2

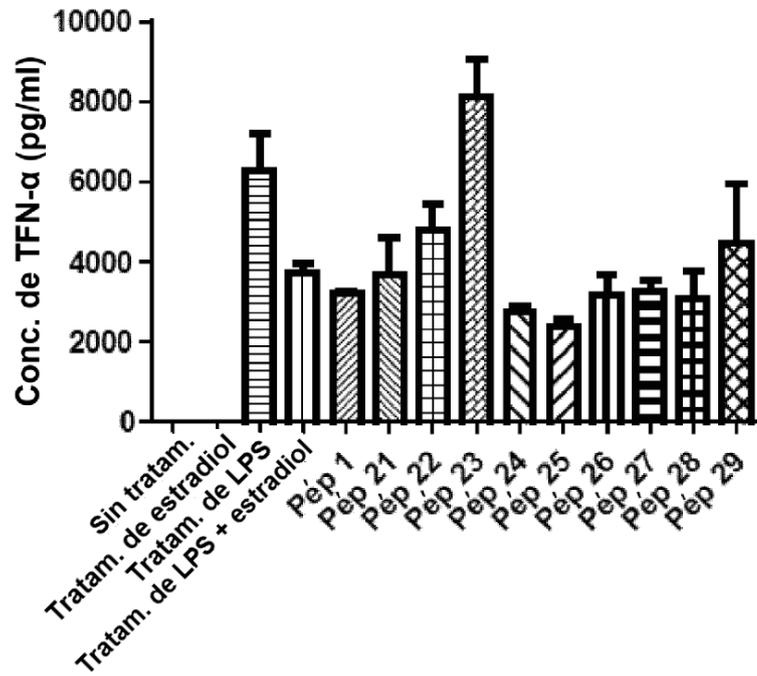


FIG.3

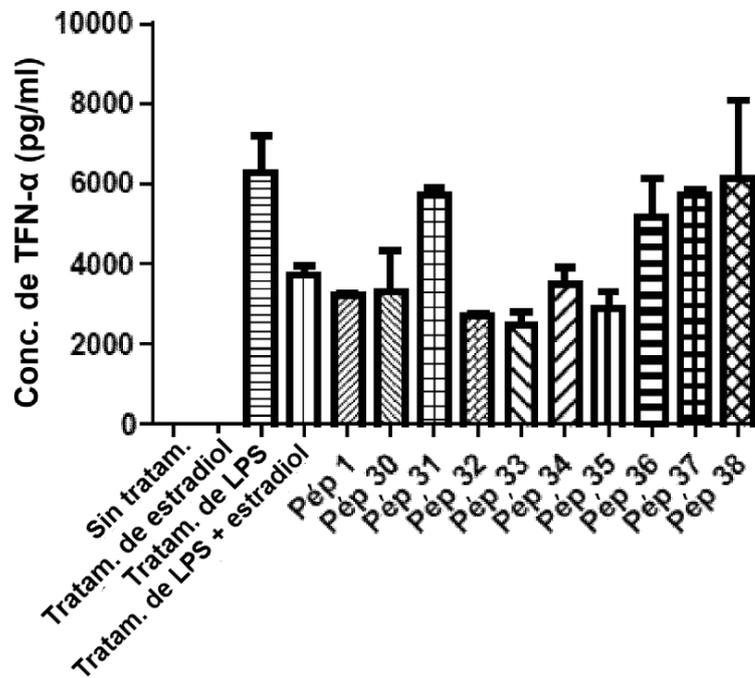


FIG.4

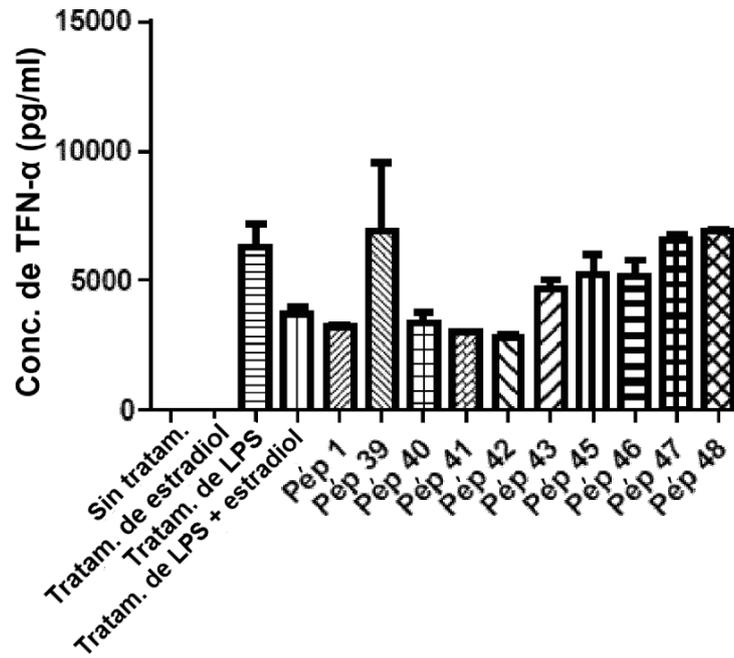


FIG.5

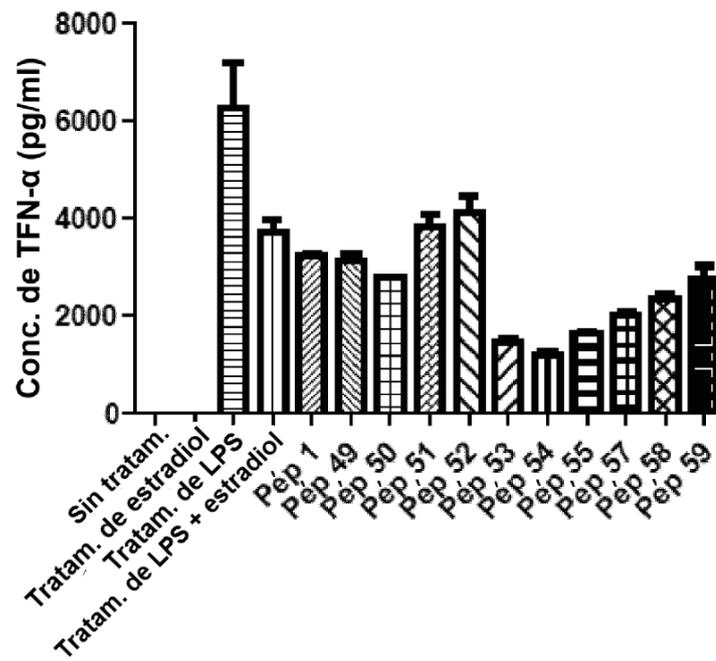


FIG.6

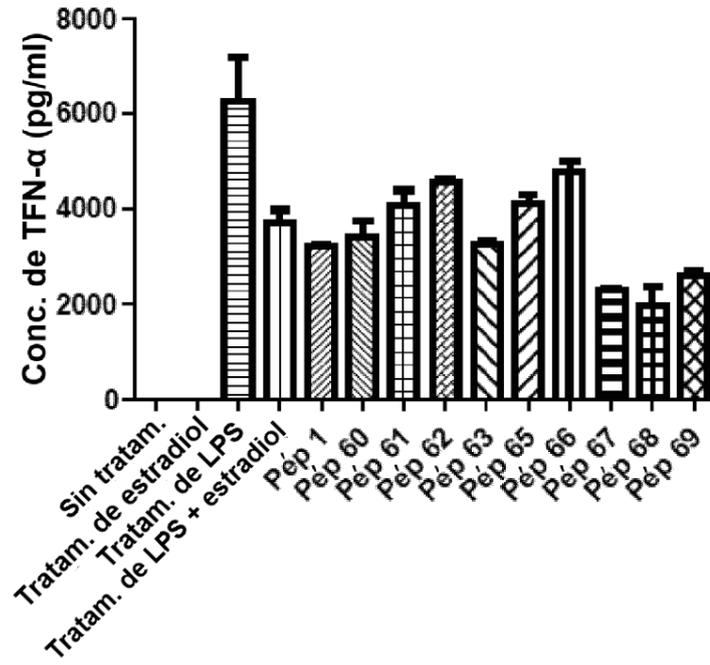


FIG.7

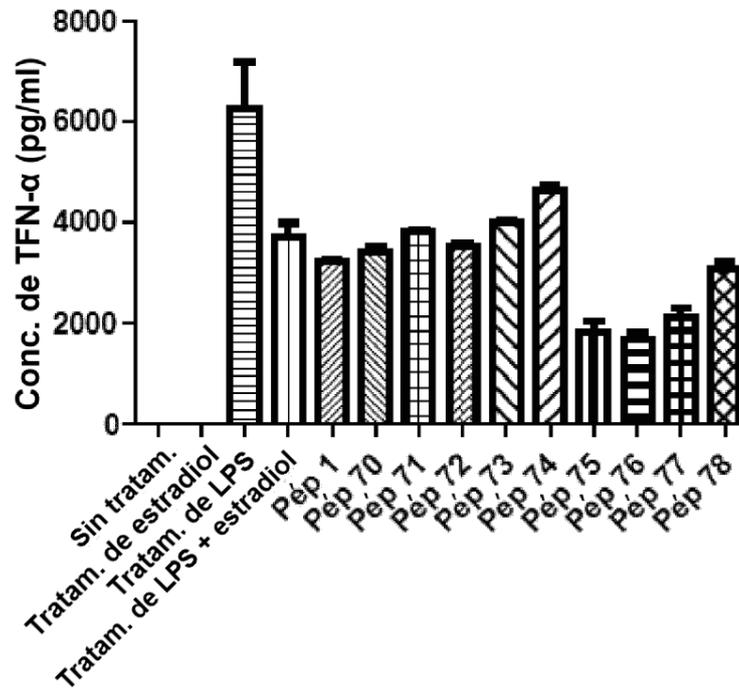


FIG.8

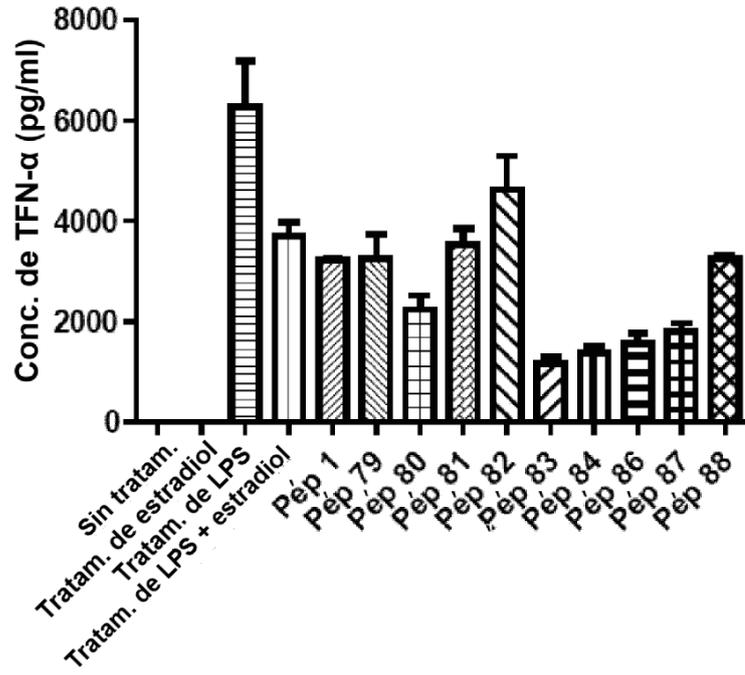


FIG.9

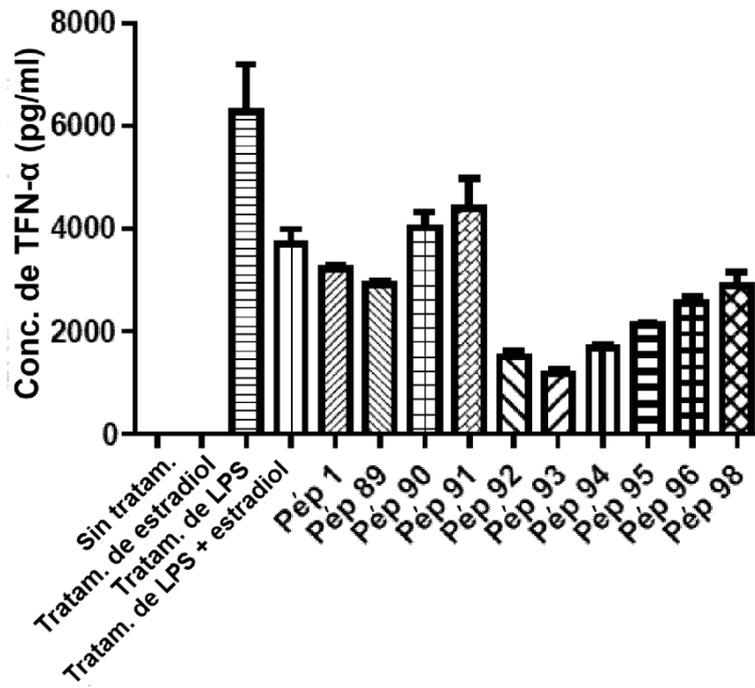


FIG.10

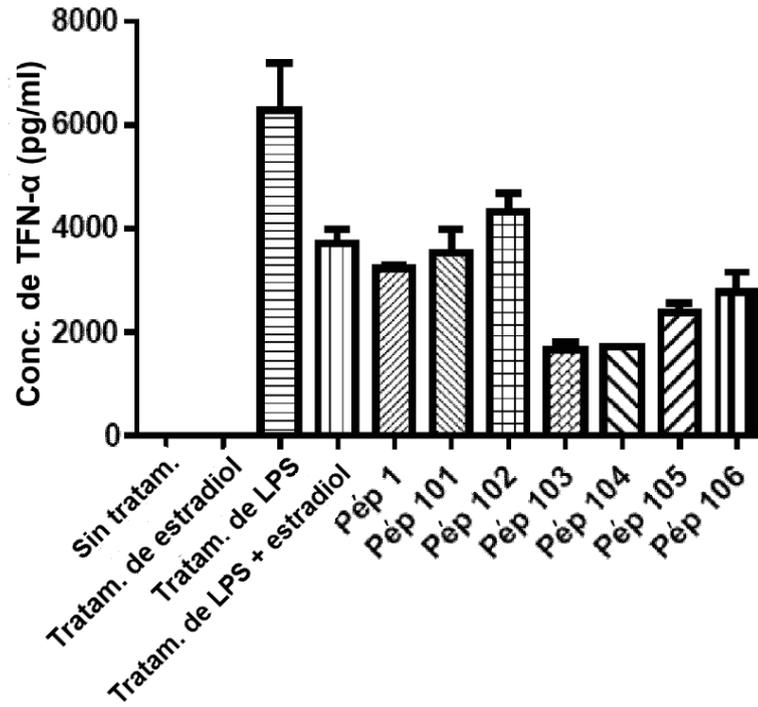


FIG.11

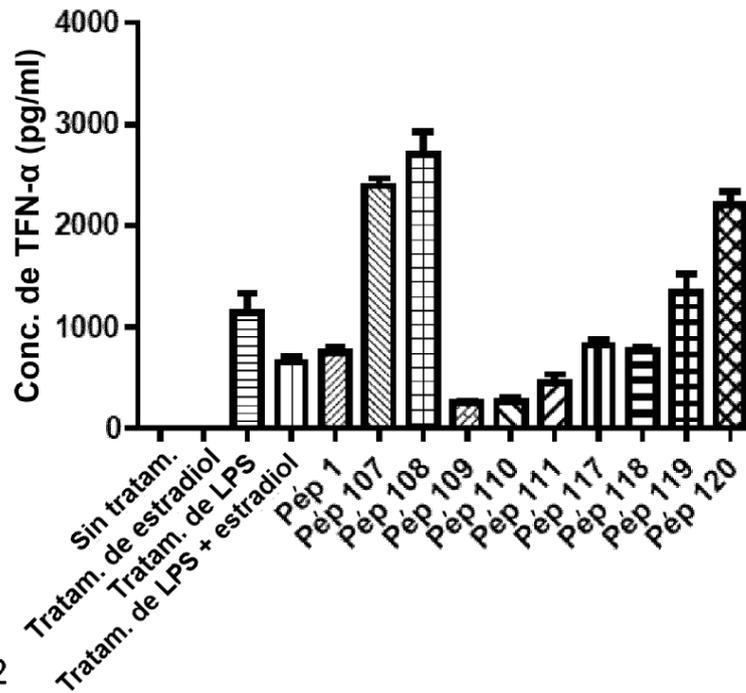


FIG.12

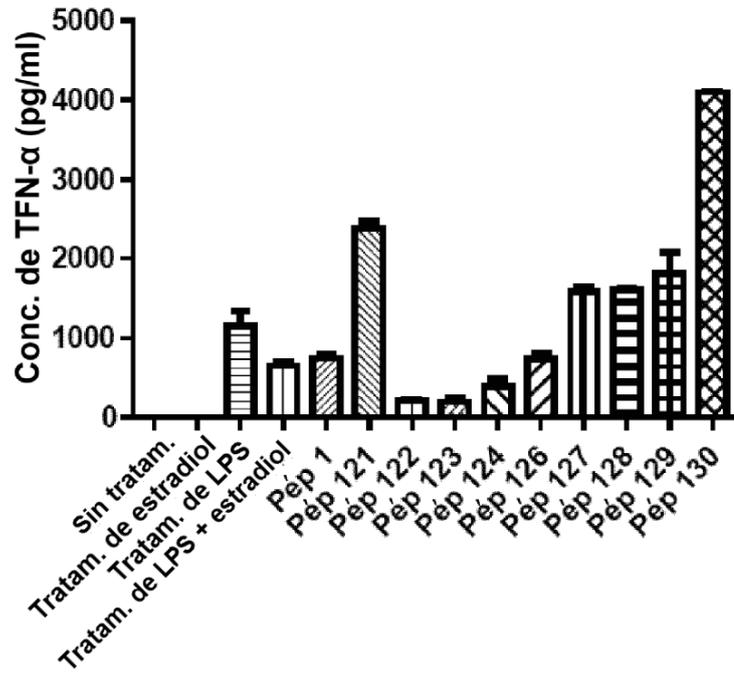


FIG.13

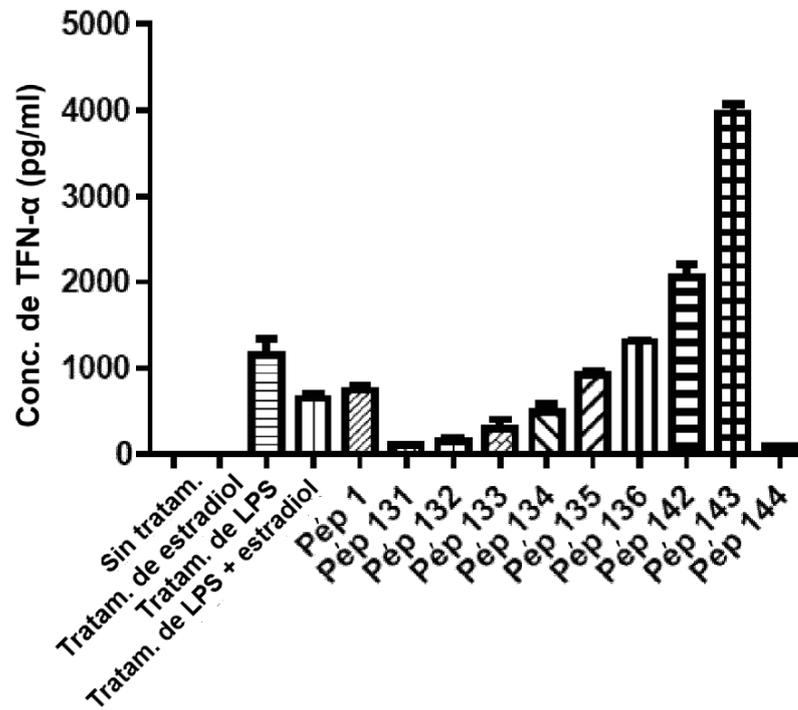


FIG.14

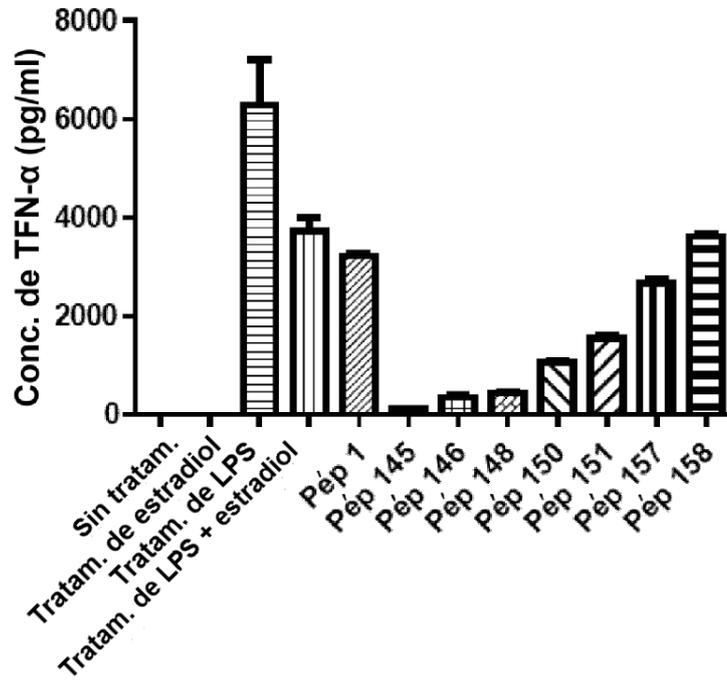


FIG.15

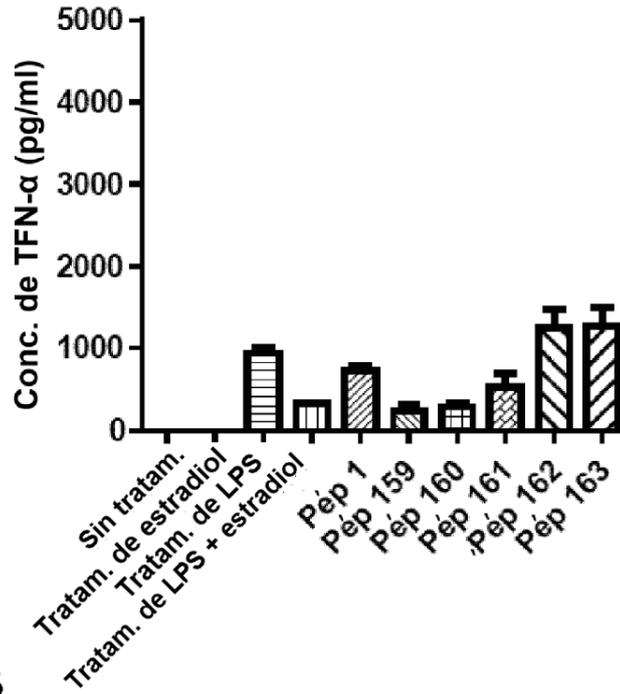


FIG.16

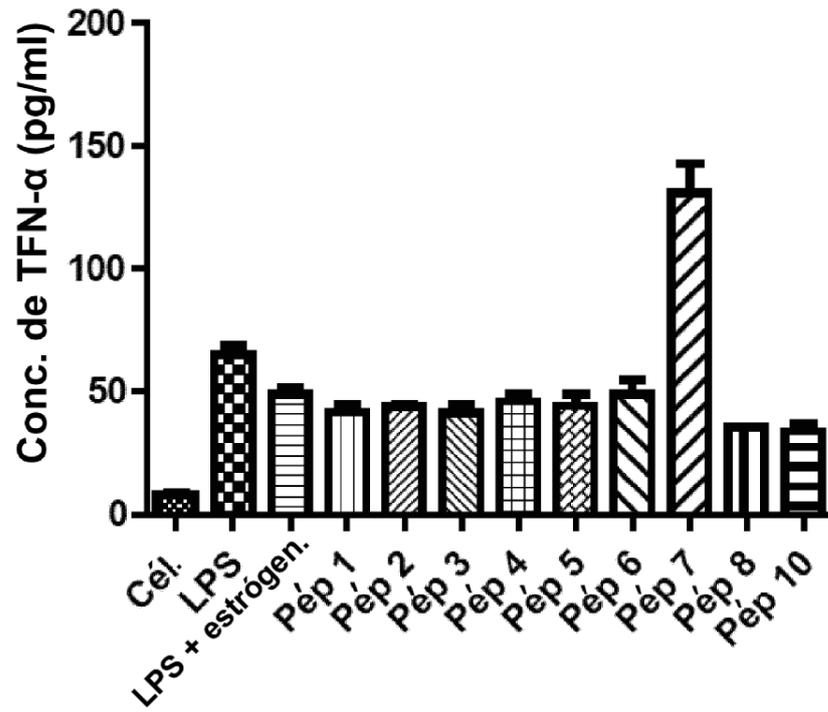


FIG.17

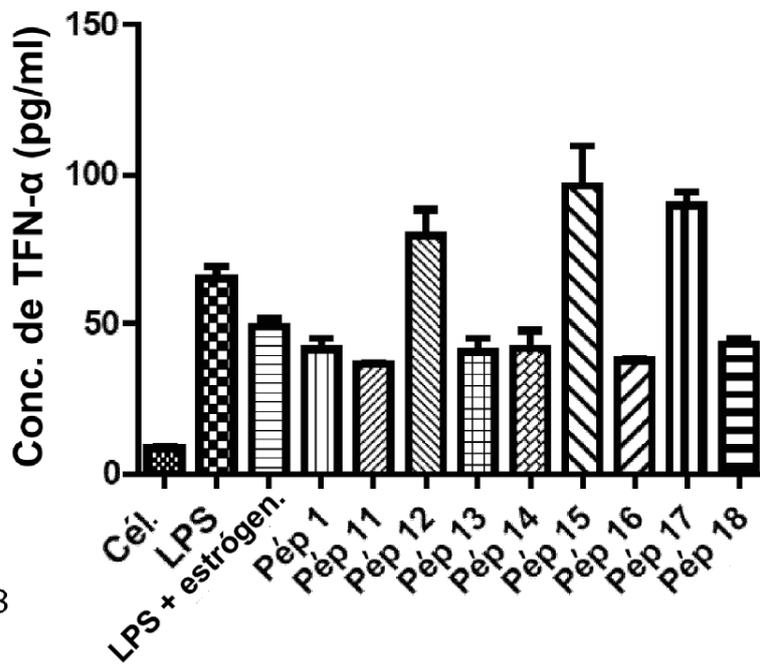


FIG.18

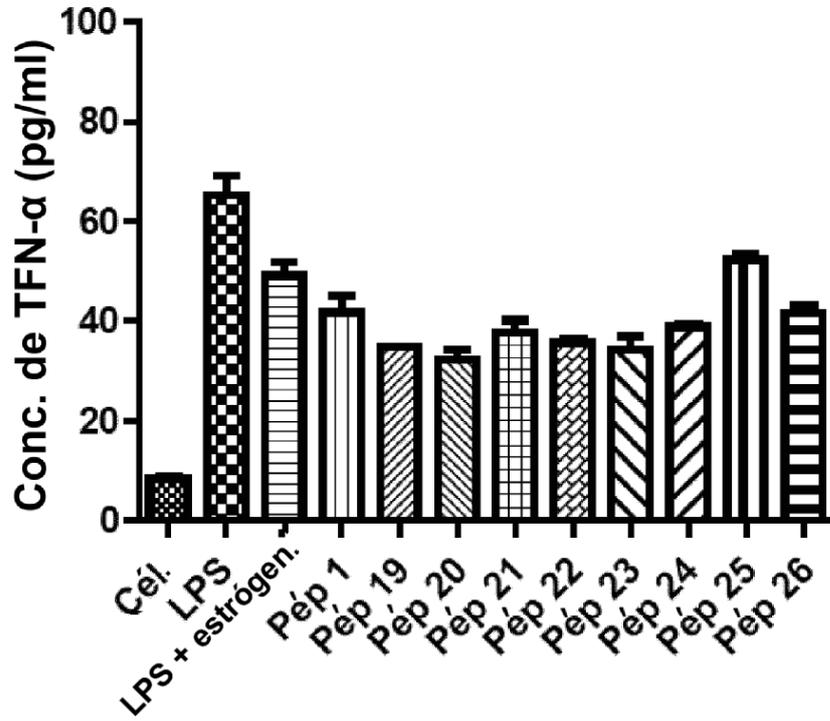


FIG.19

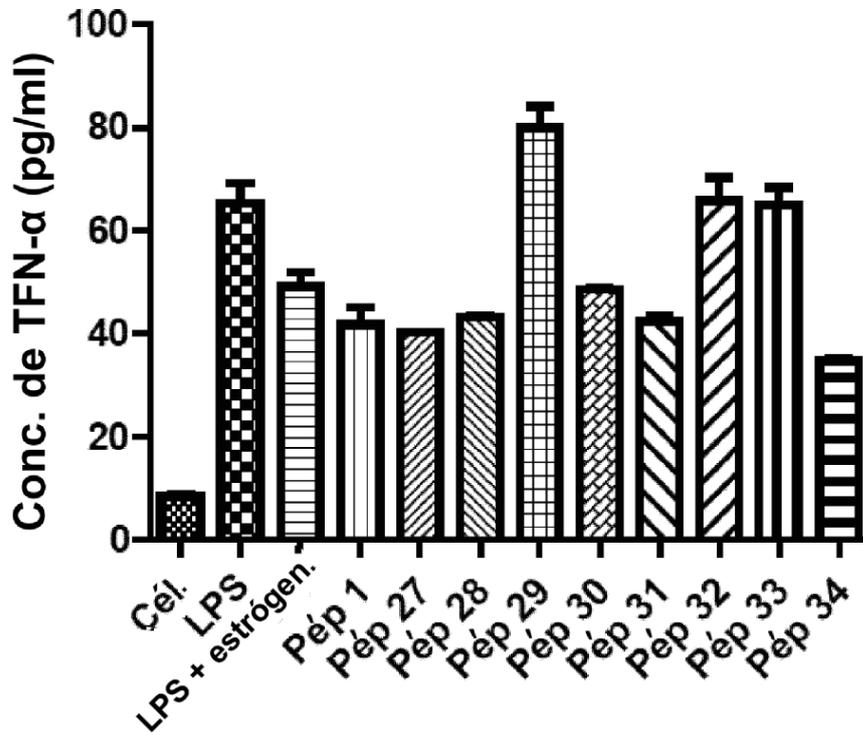


FIG.20

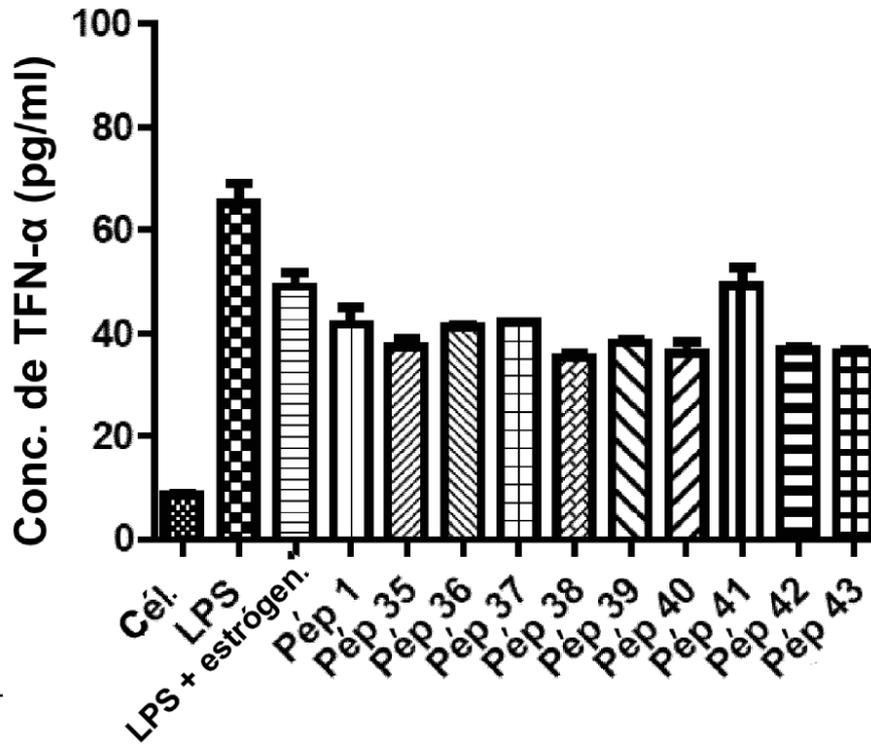


FIG. 21

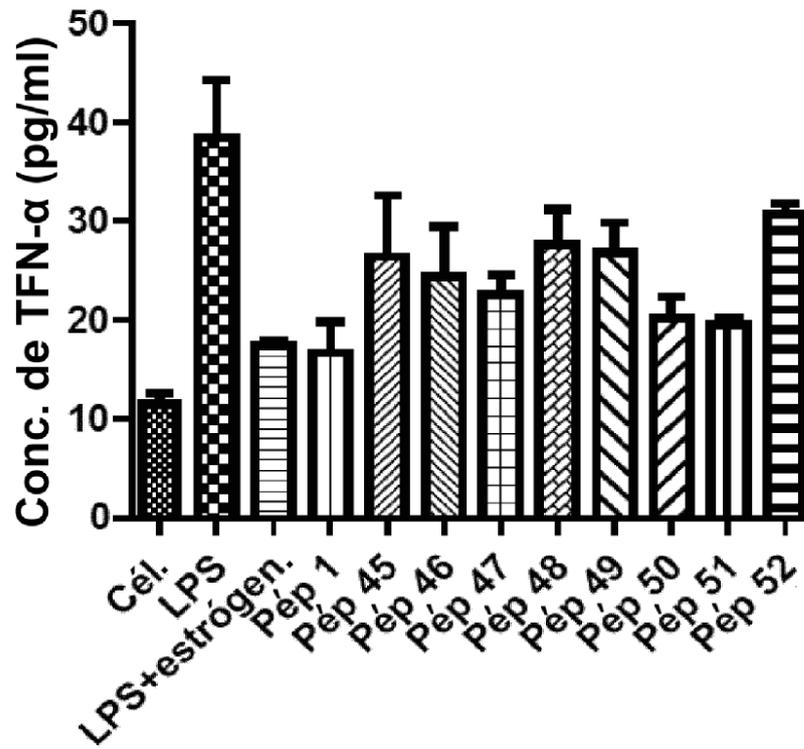


FIG. 22

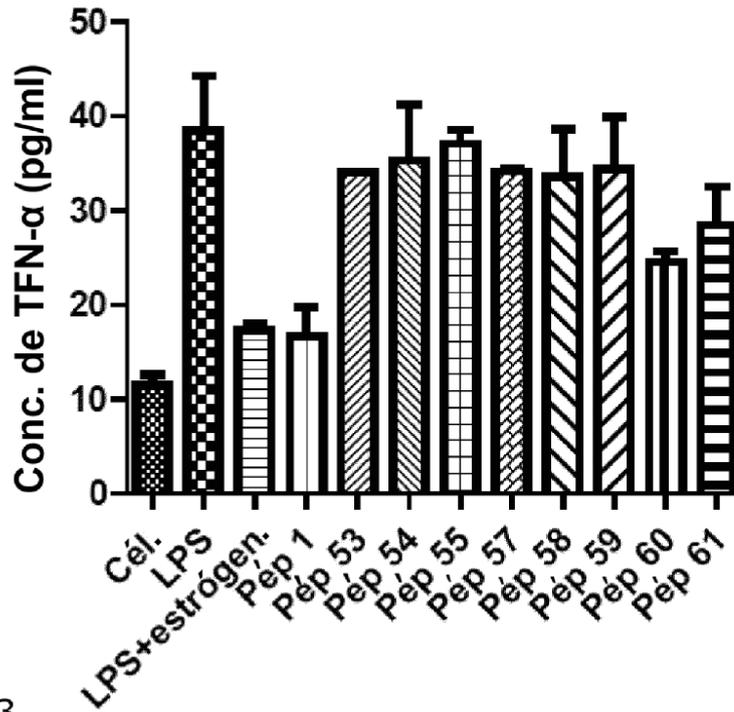


FIG.23

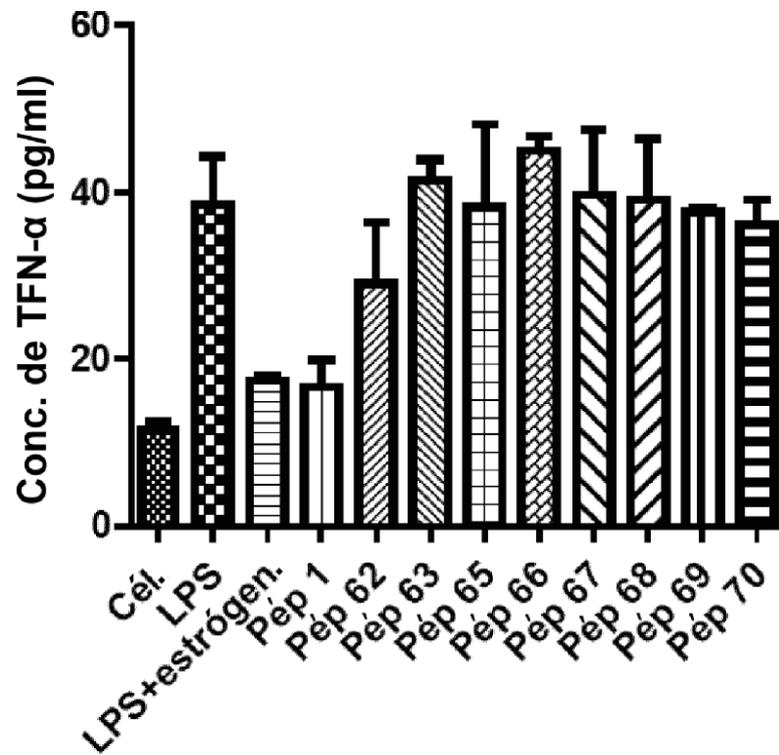


FIG.24

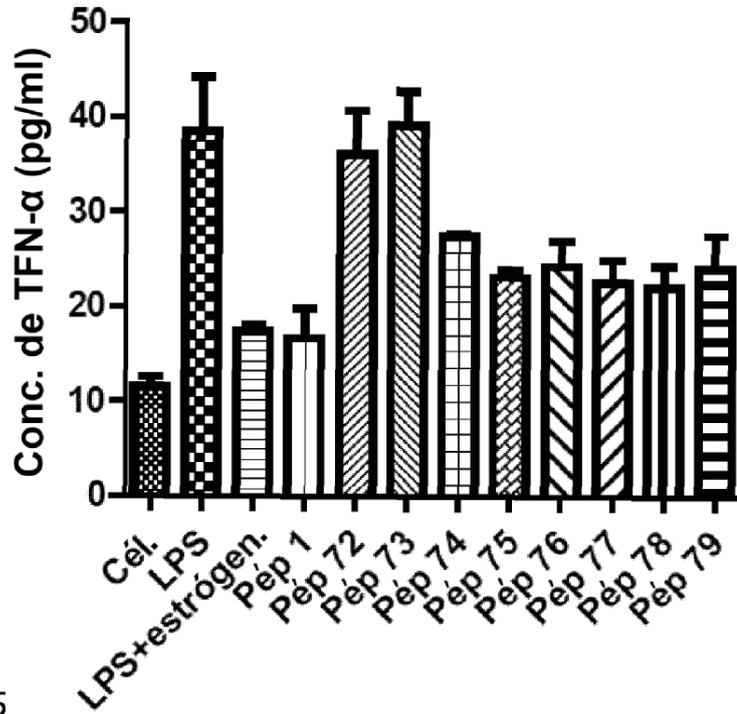


FIG.25

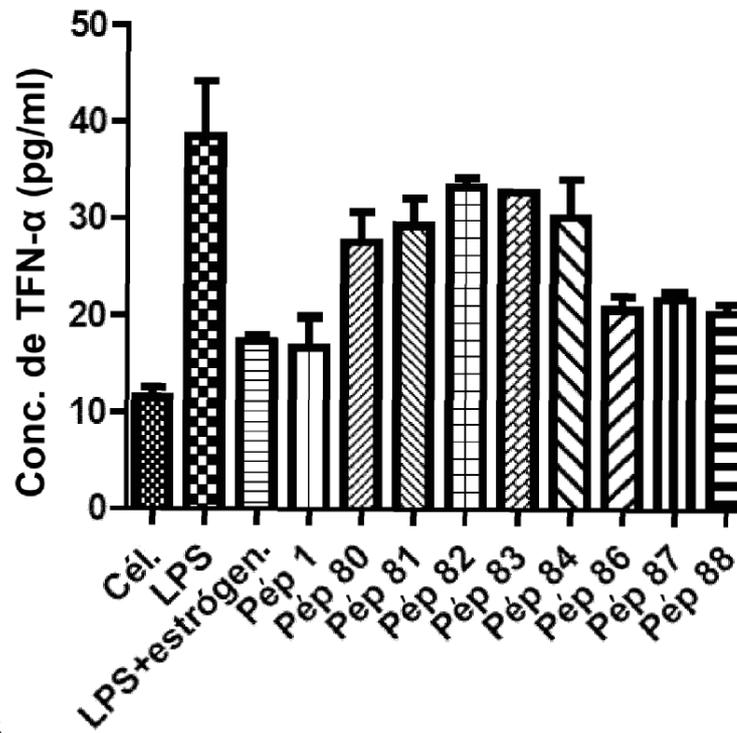


FIG.26

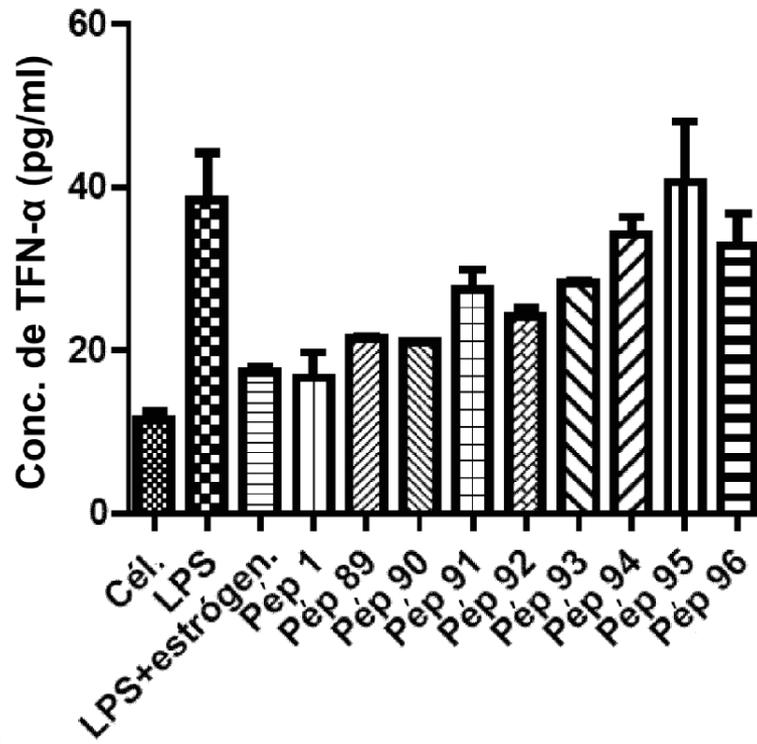


FIG.27

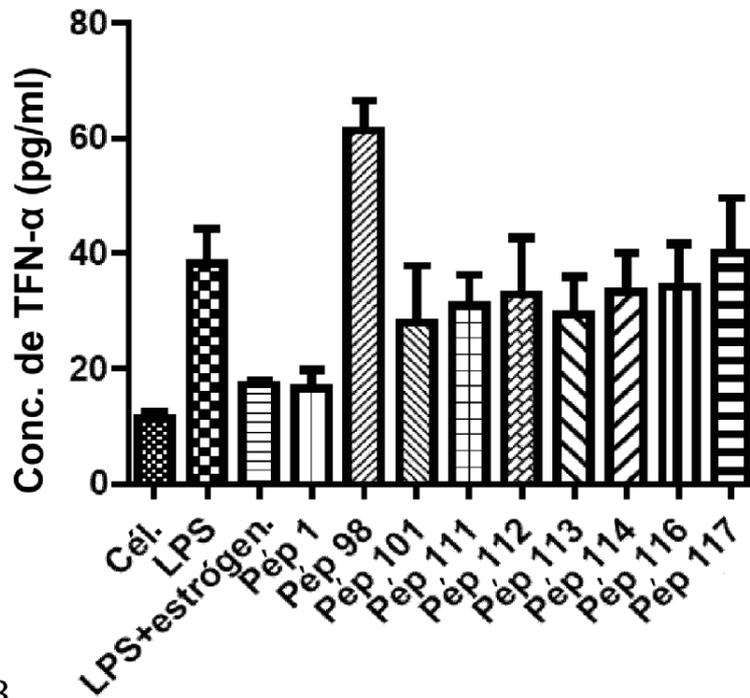


FIG.28

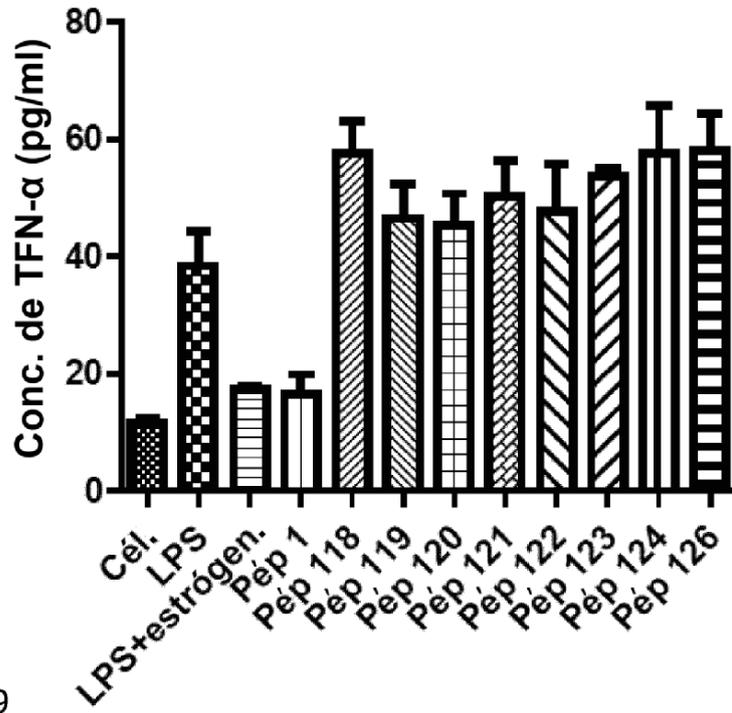


FIG.29

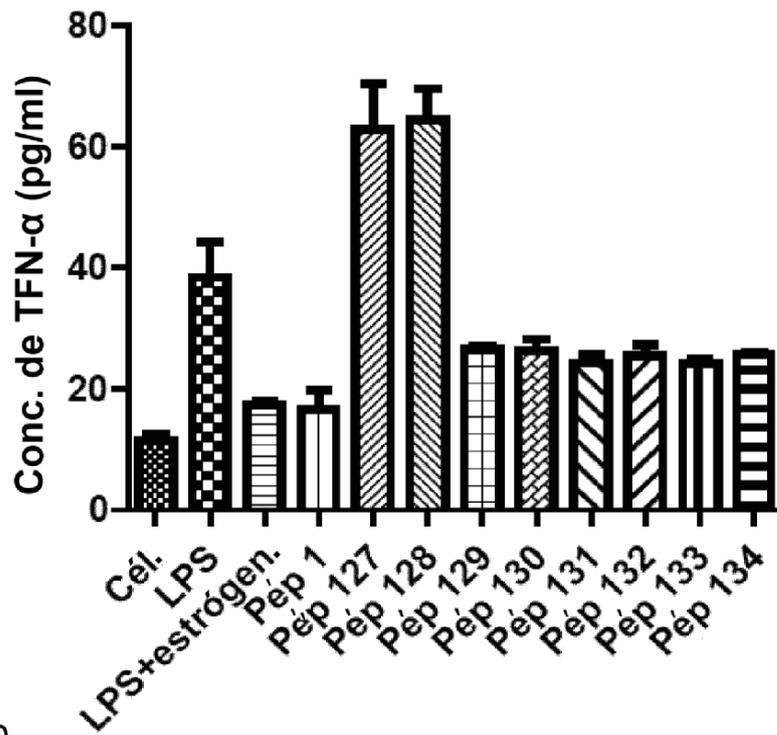


FIG.30

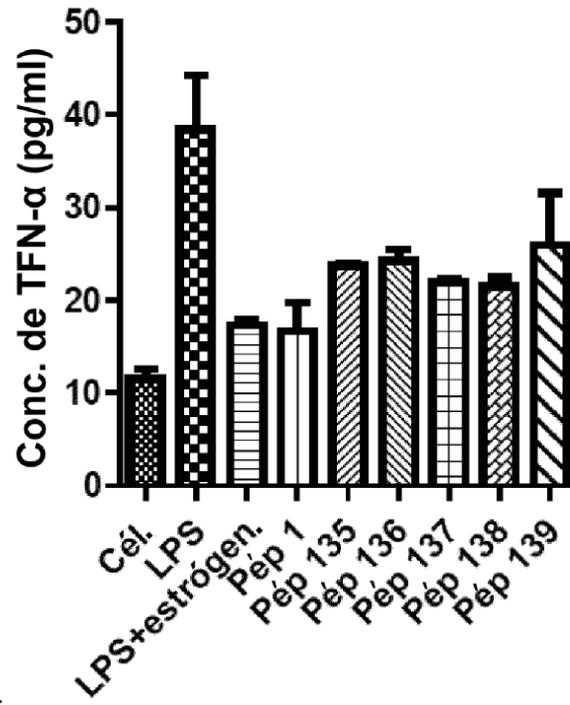


FIG.31

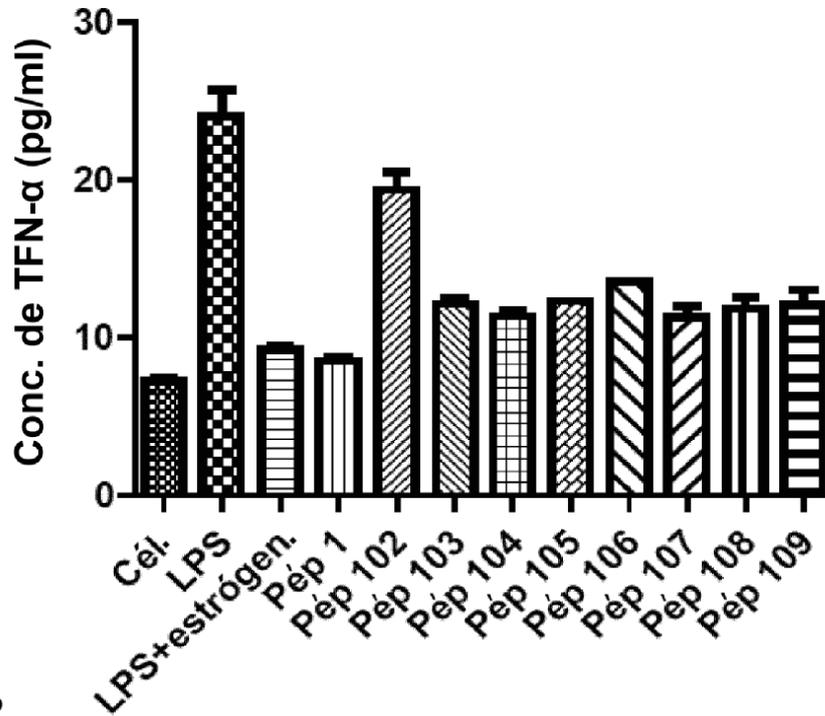


FIG.32

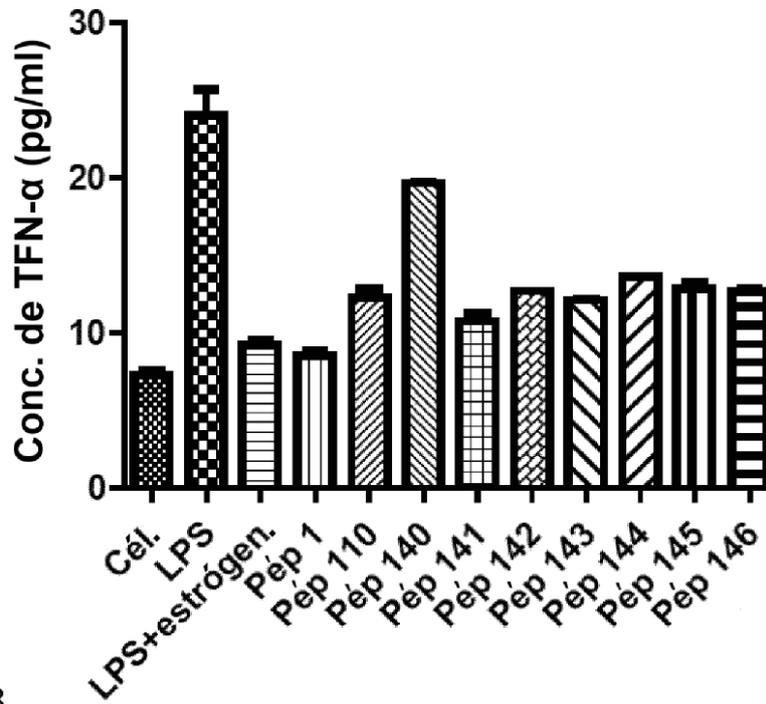


FIG.33

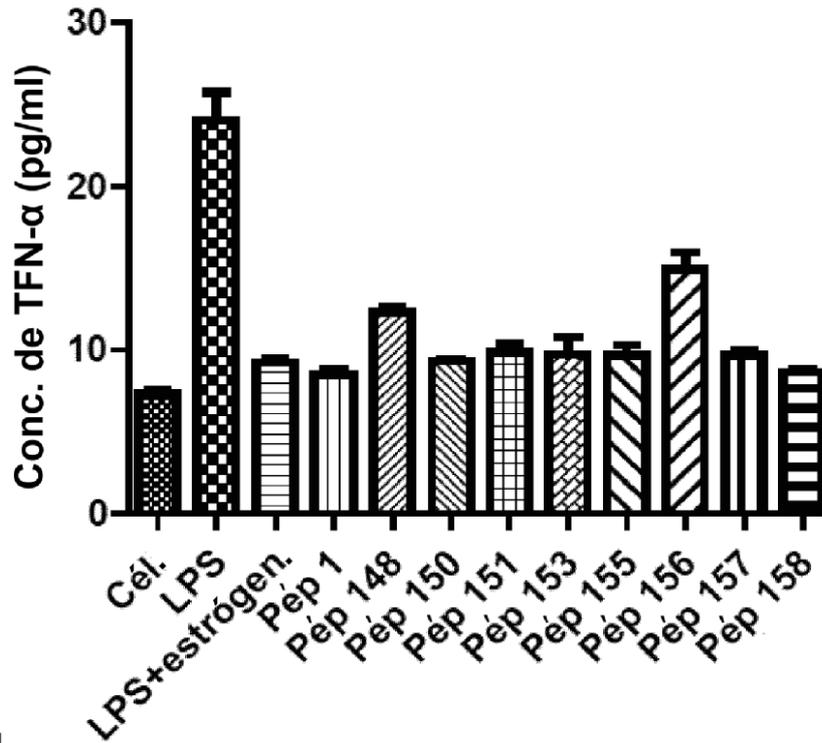


FIG.34

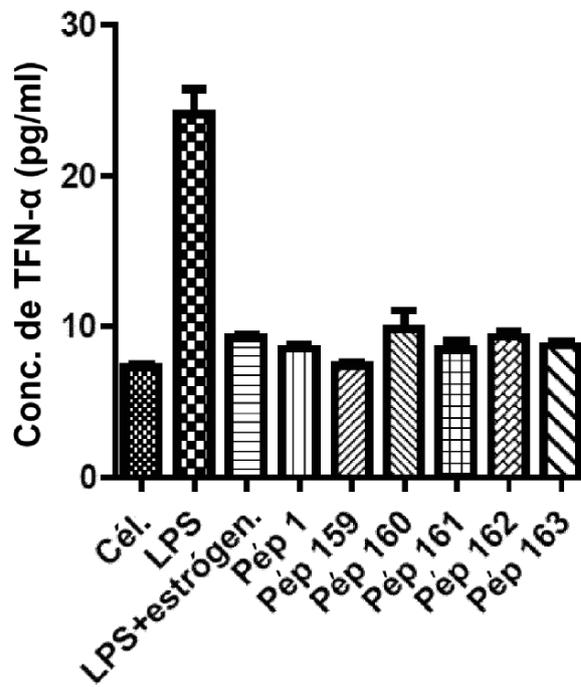


FIG.35

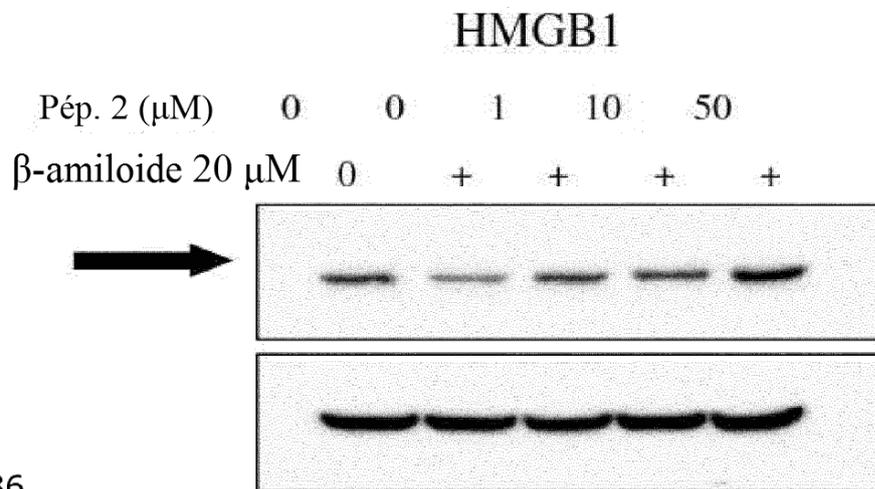


FIG.36

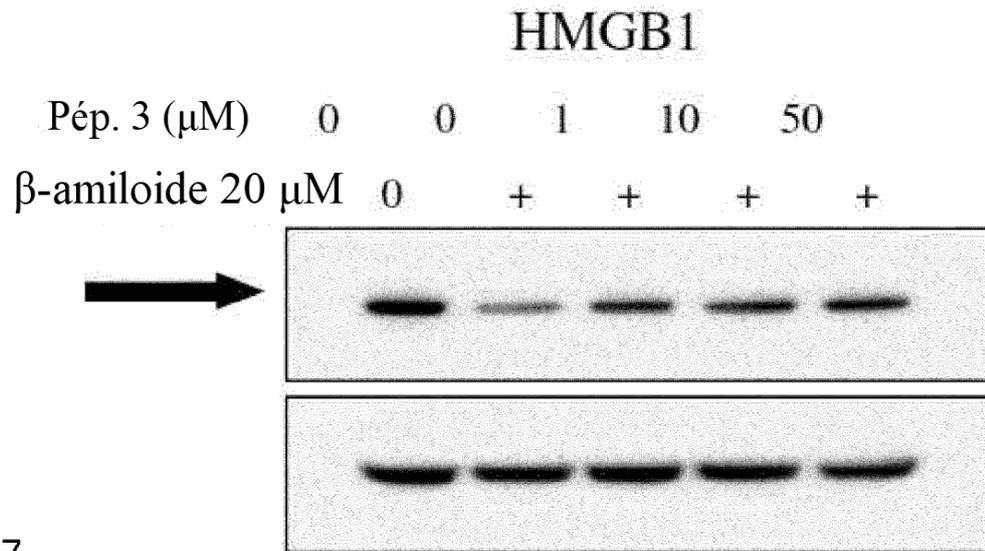


FIG.37

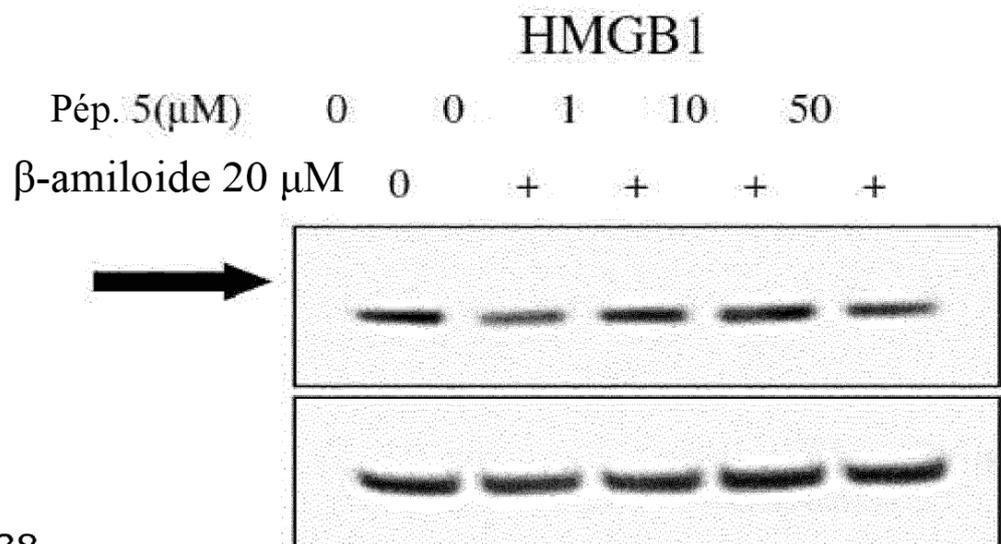


FIG.38

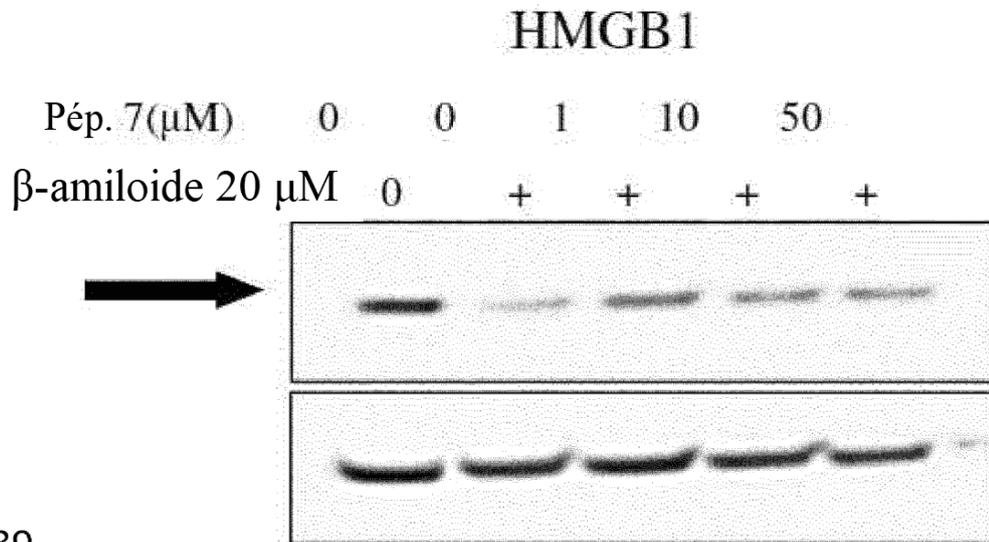


FIG.39

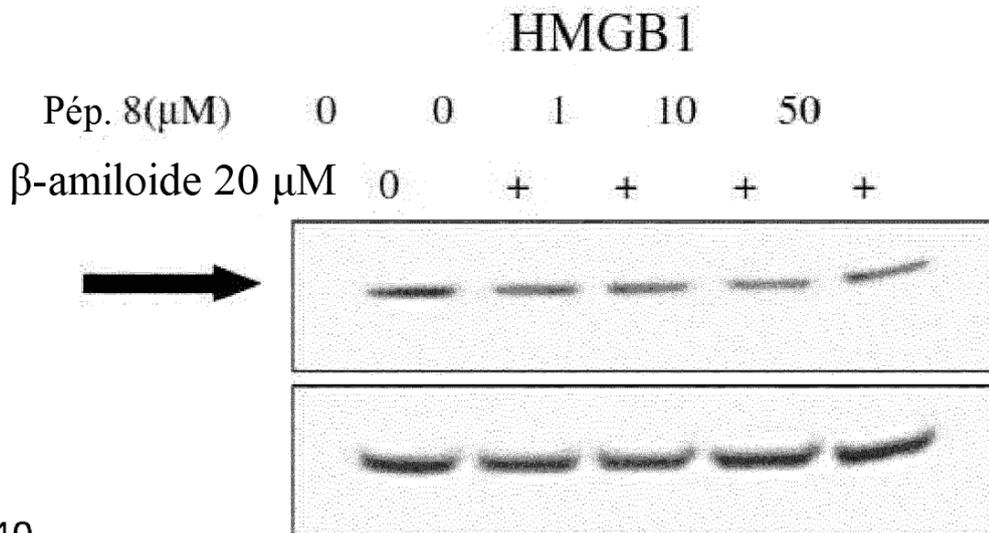


FIG.40

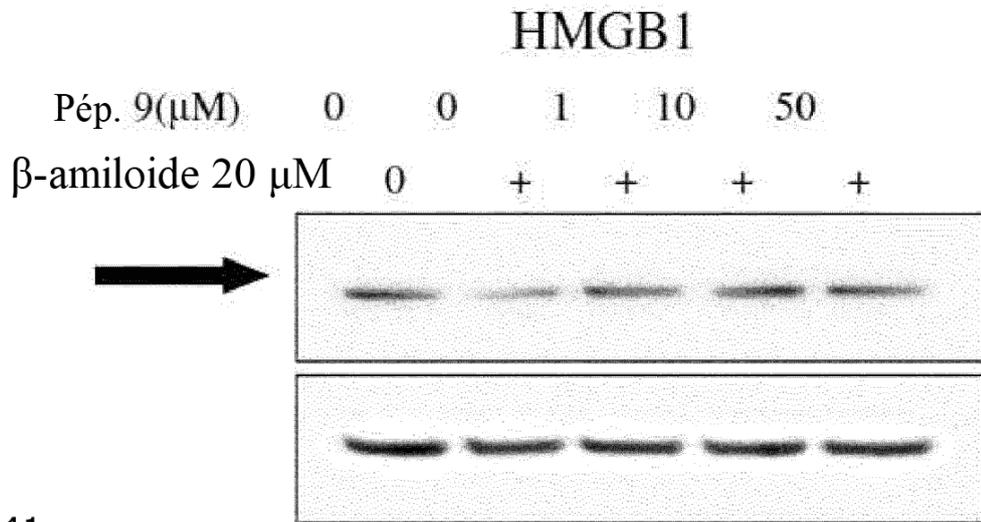


FIG.41

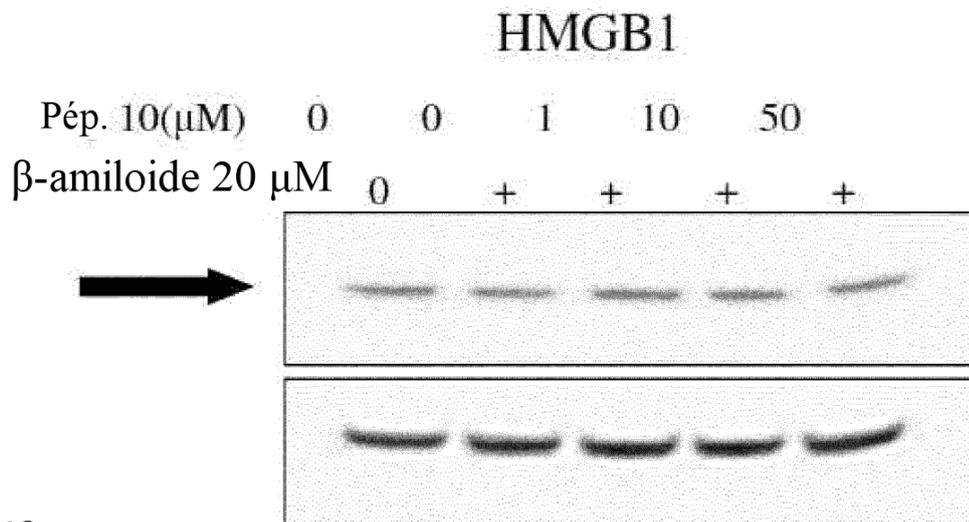


FIG.42

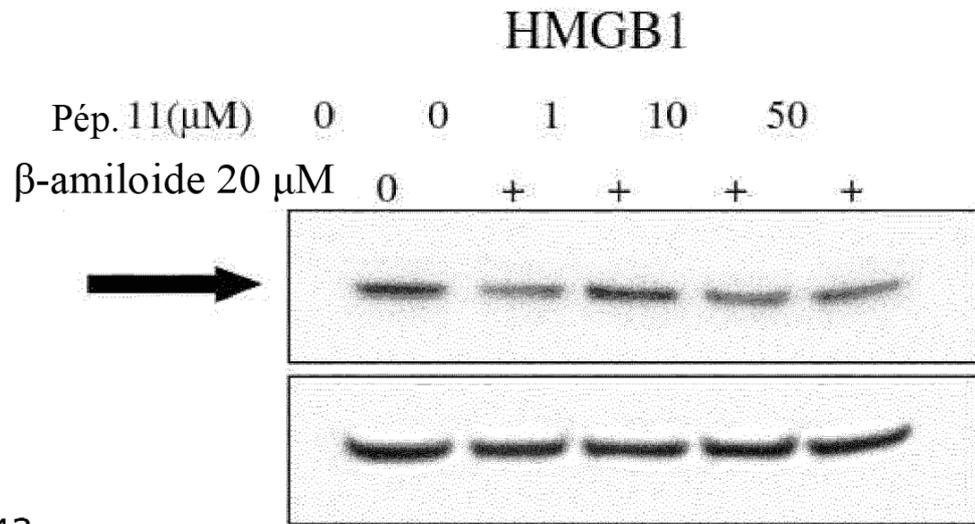


FIG.43

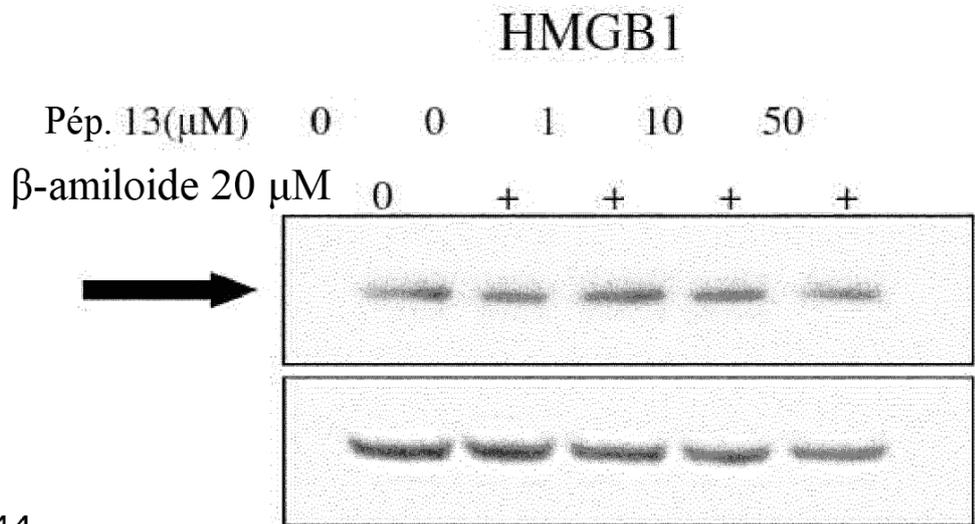


FIG.44

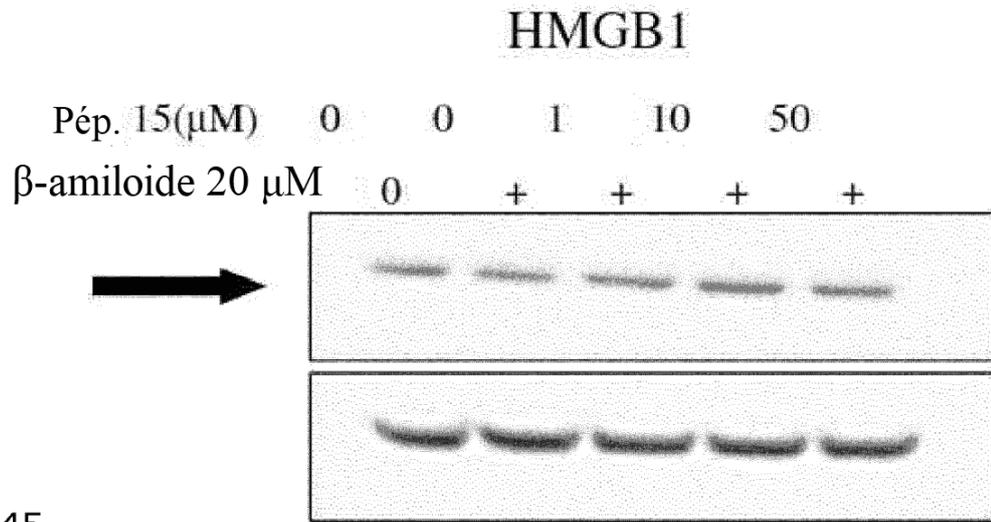


FIG.45

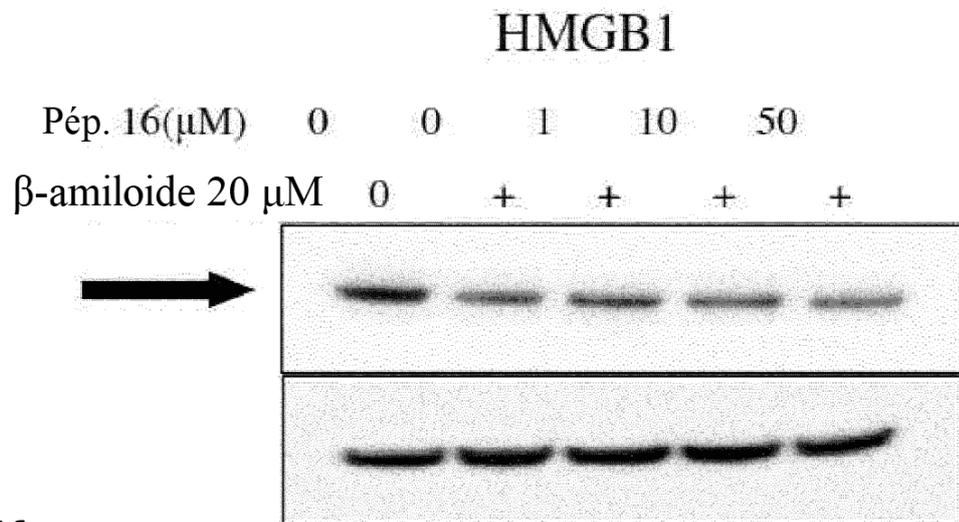


FIG.46

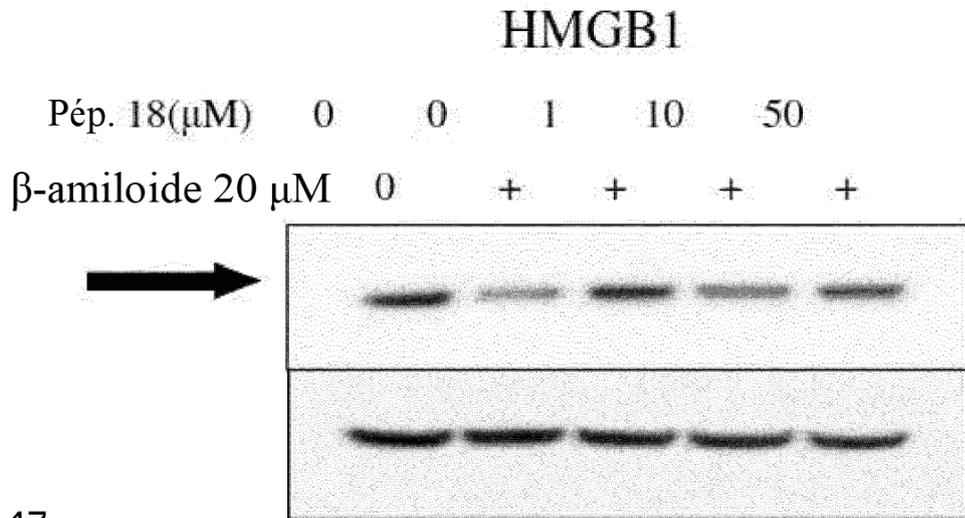


FIG.47

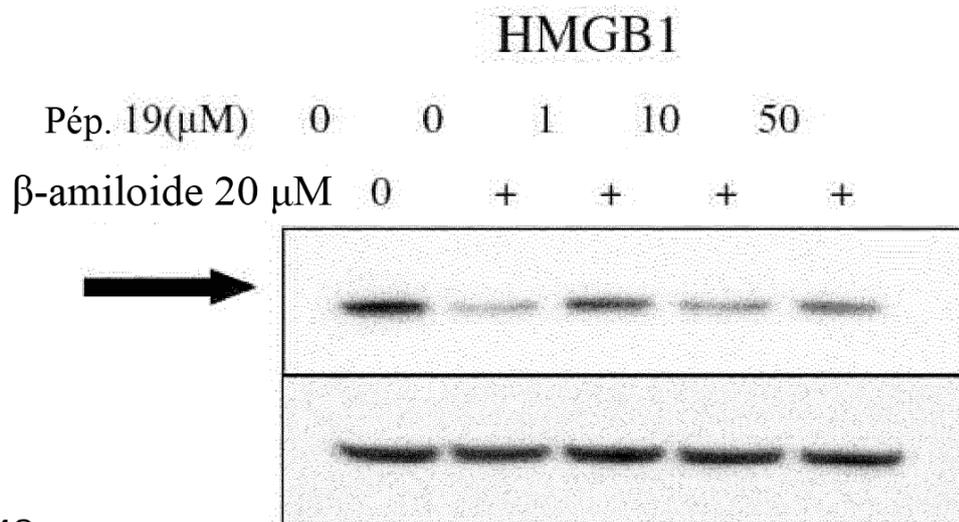


FIG.48

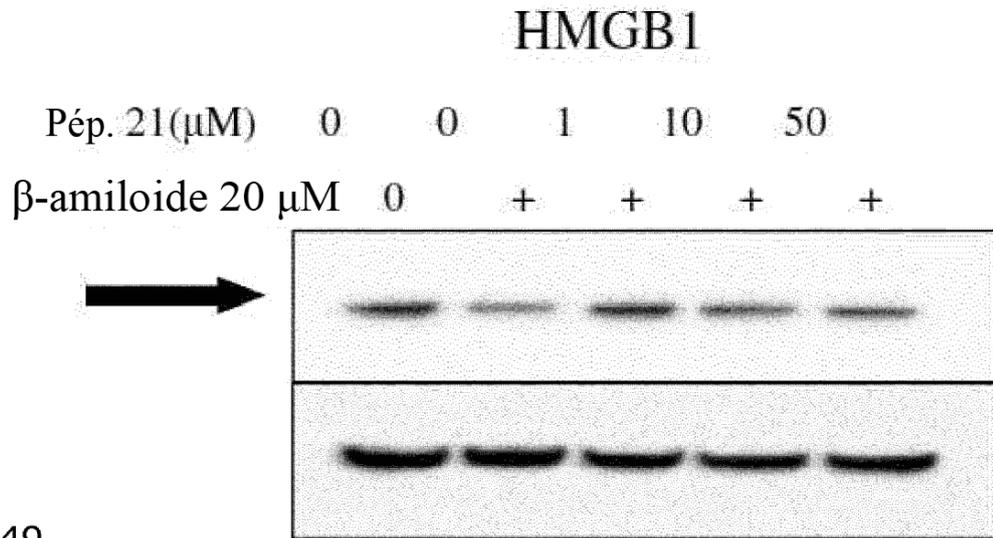


FIG.49

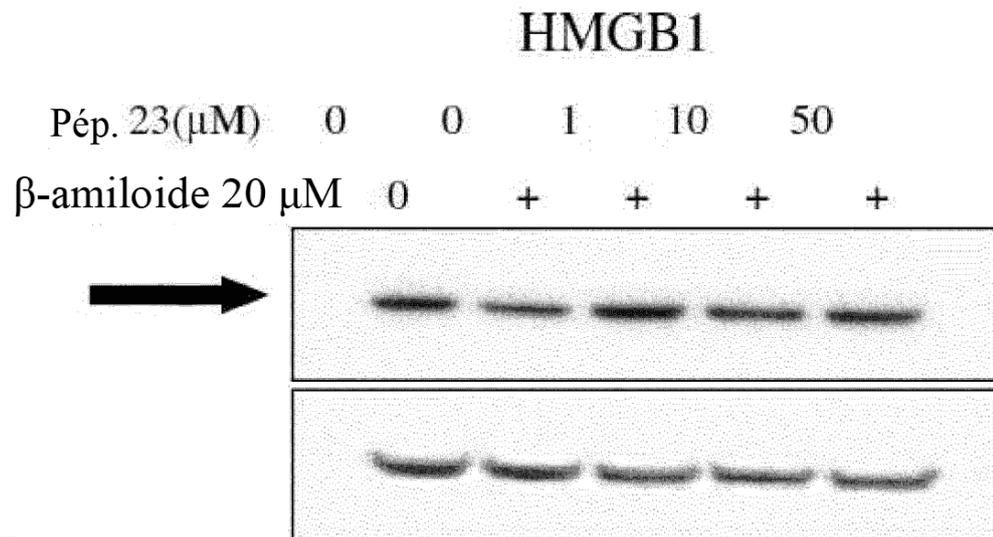
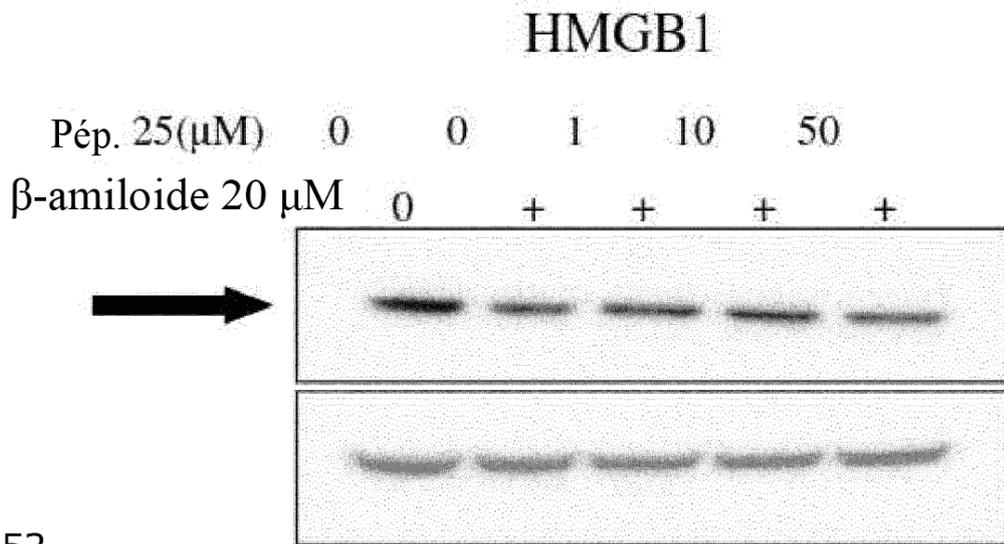
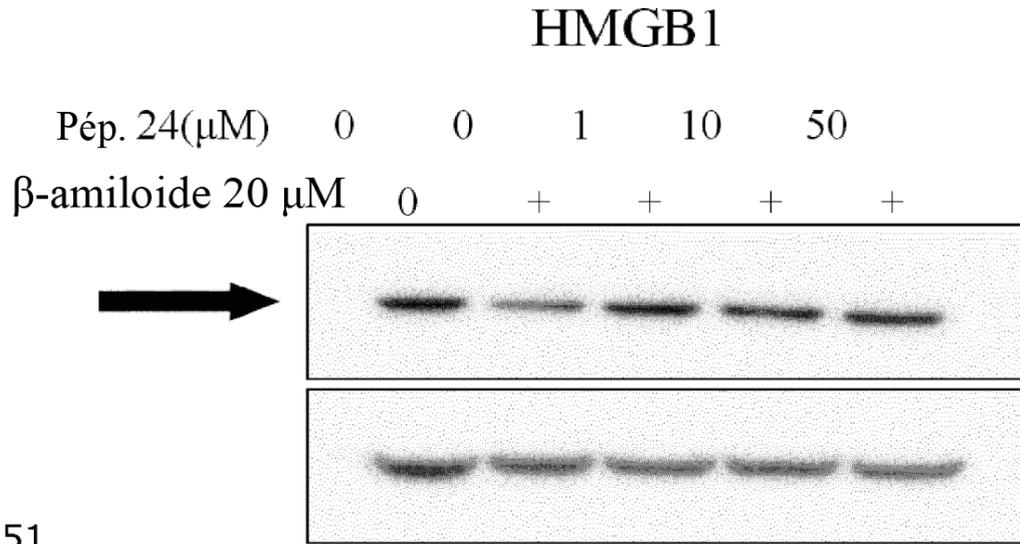


FIG.50



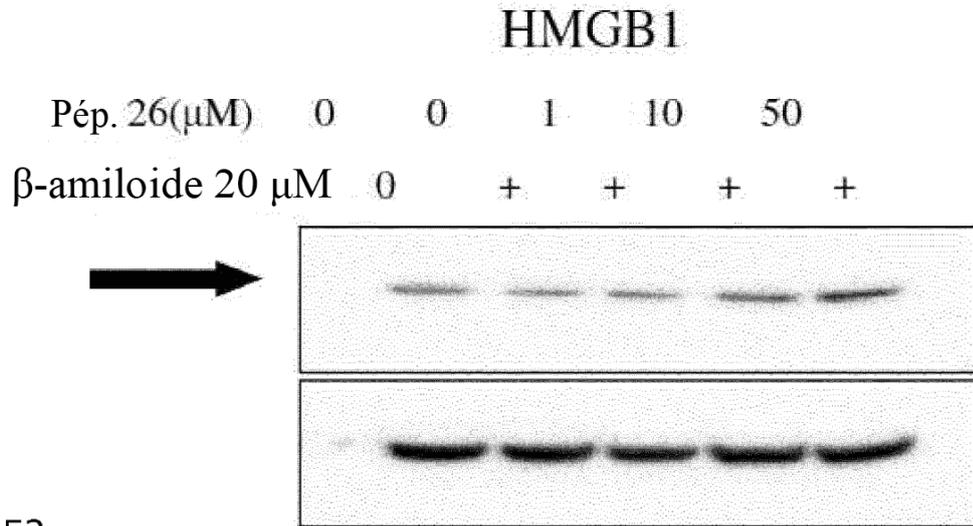


FIG.53

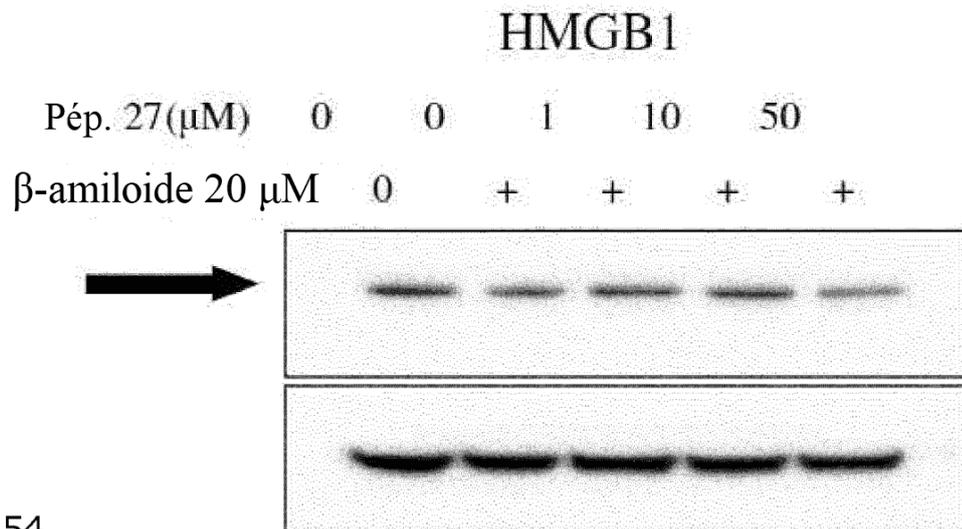


FIG.54

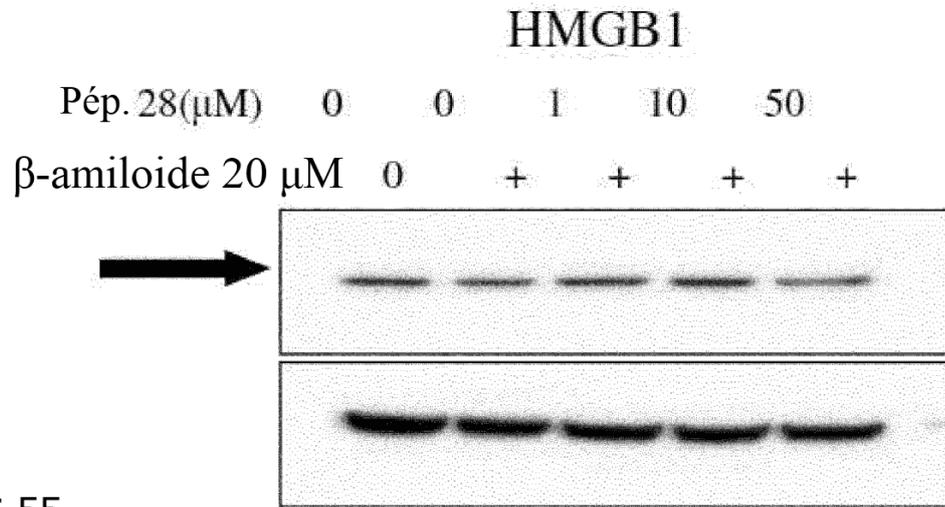


FIG.55

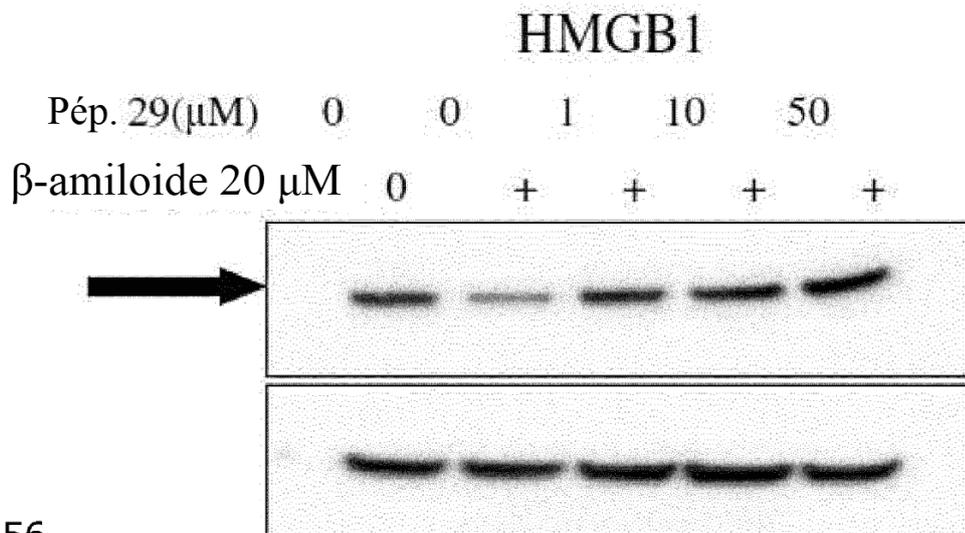


FIG.56

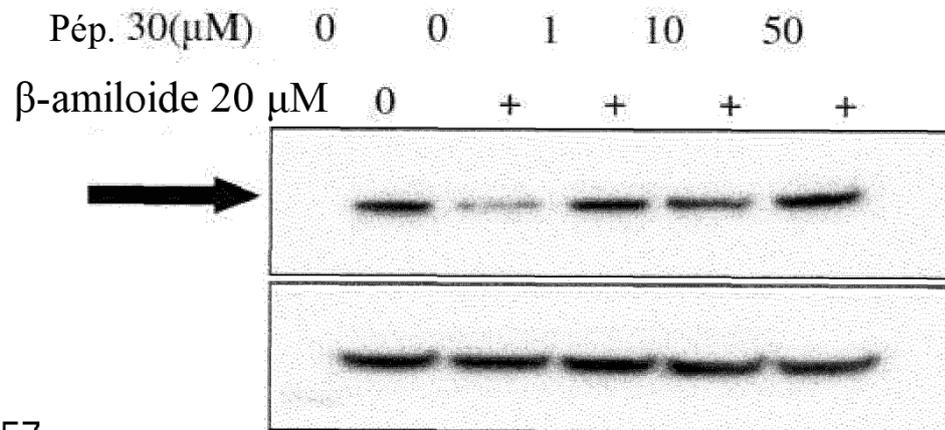


FIG.57

FIG.58

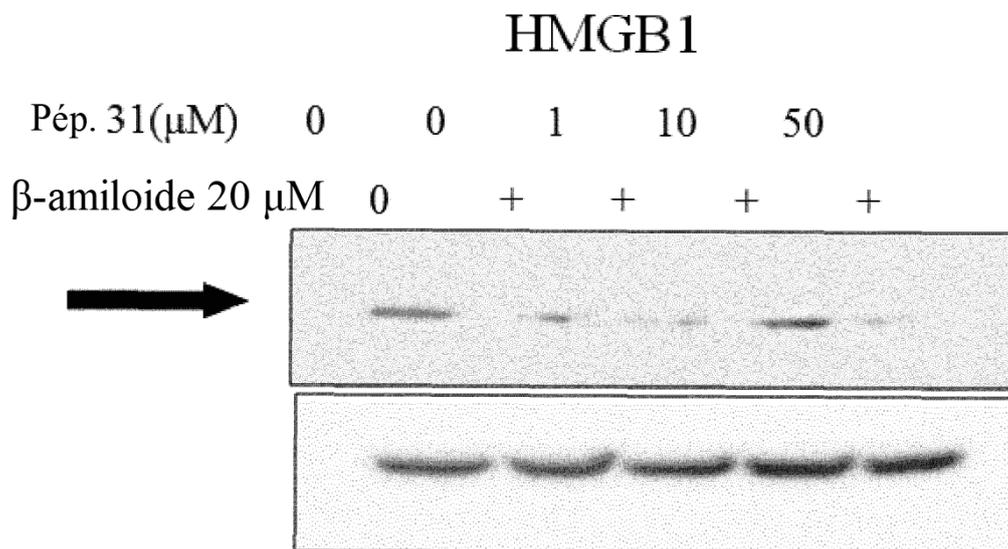


FIG.59

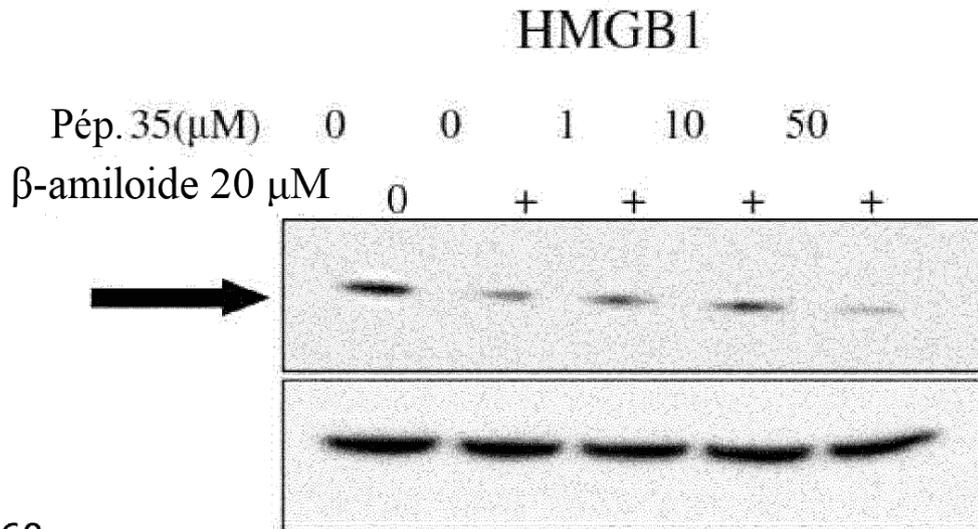
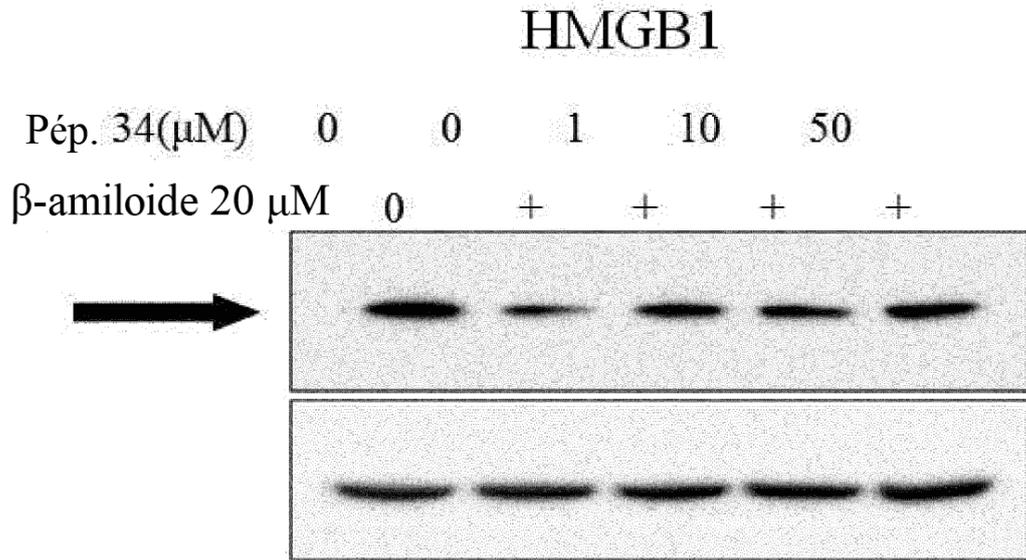


FIG.60

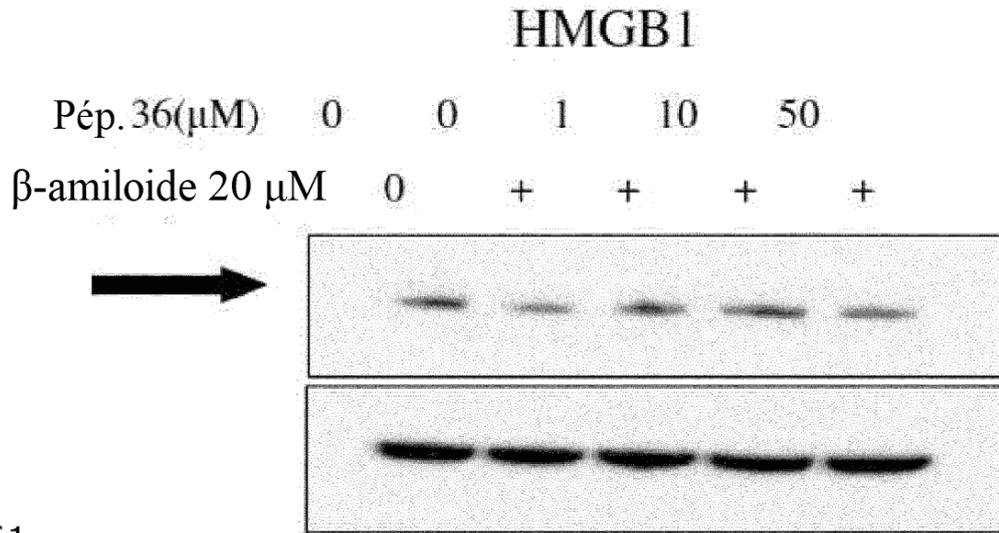


FIG.61

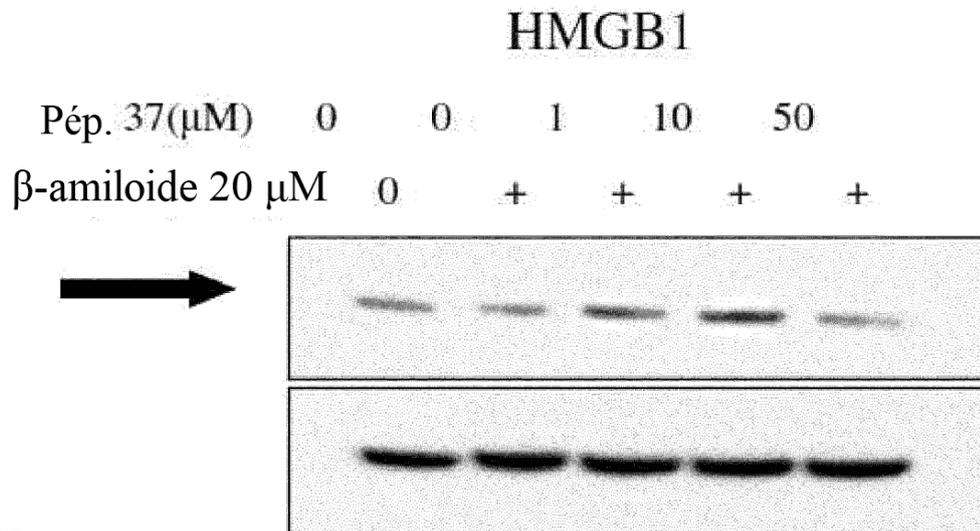


FIG.62

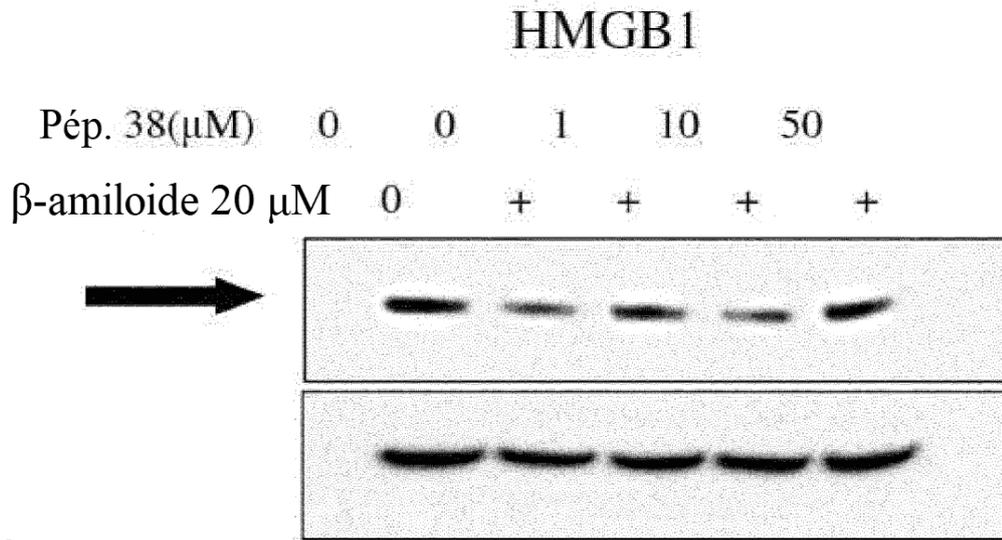


FIG.63

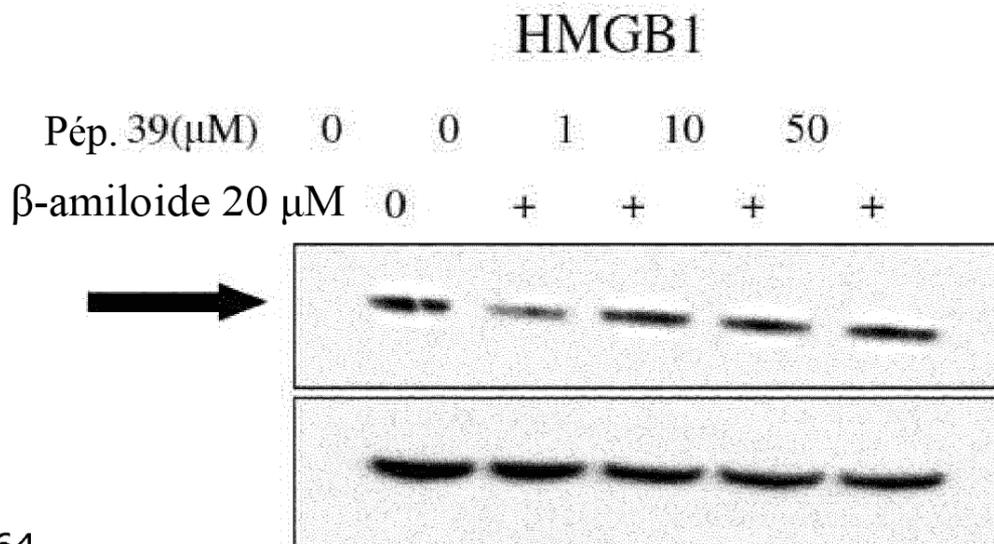


FIG.64

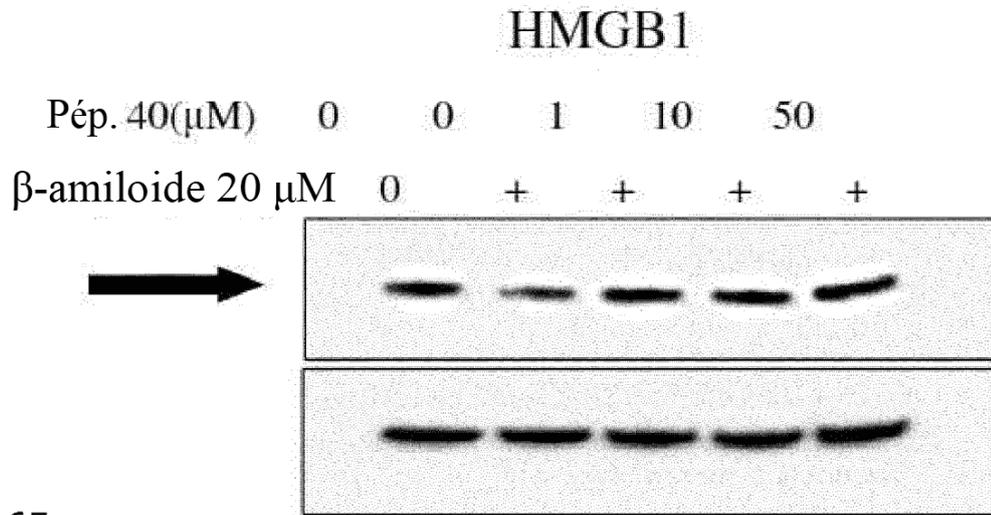


FIG.65

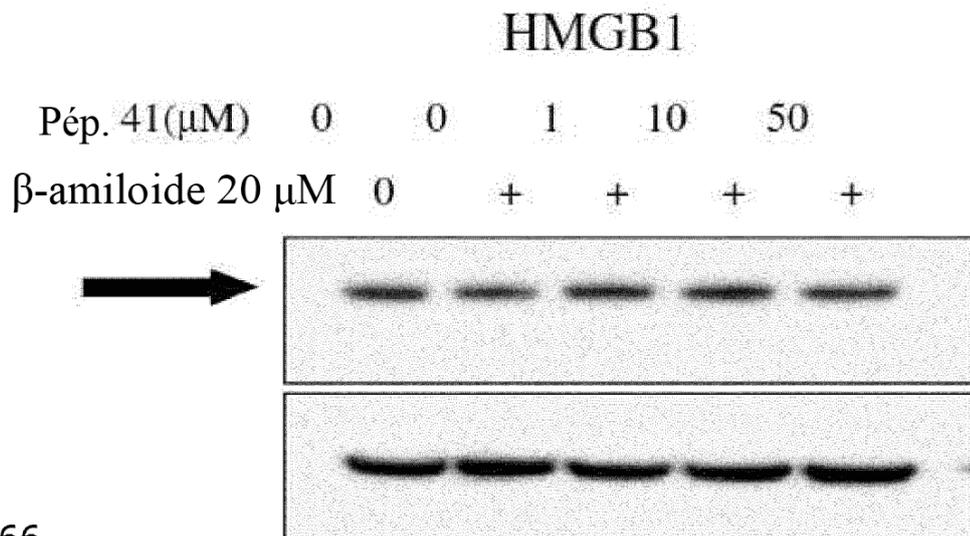


FIG.66

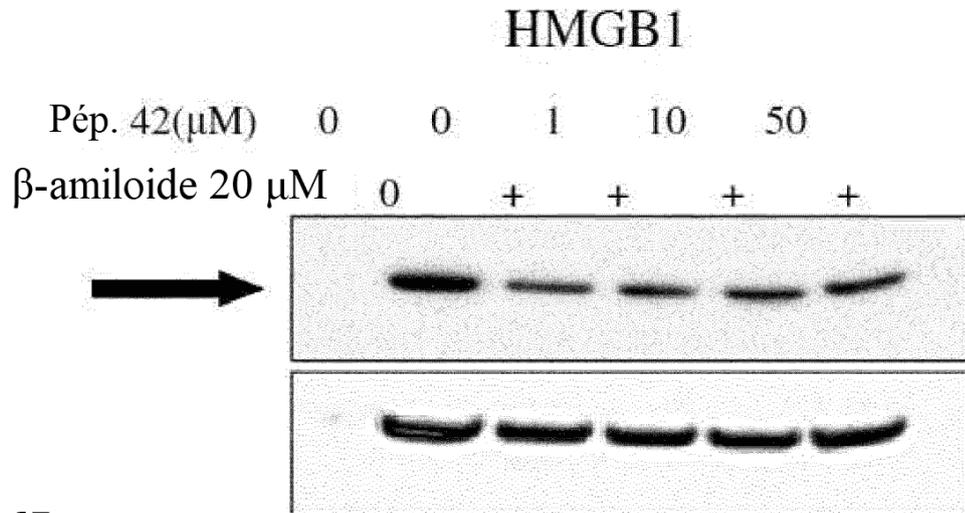


FIG.67

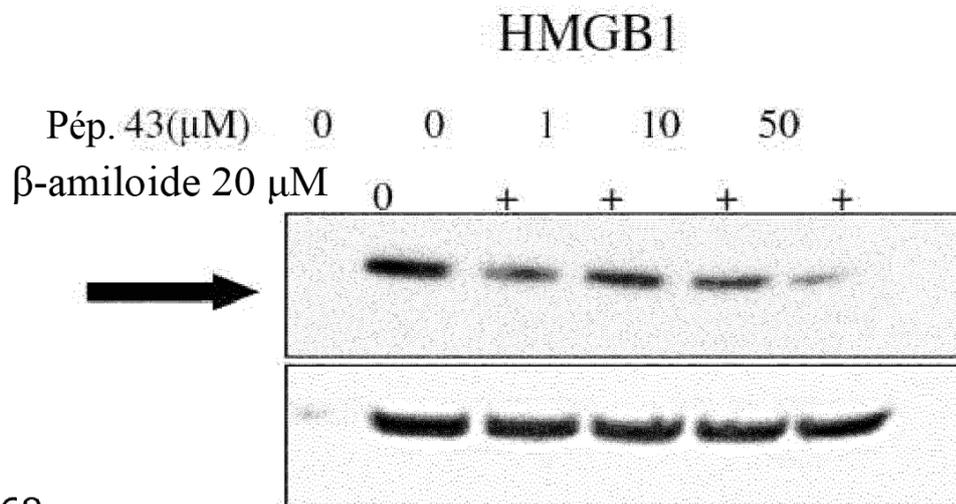


FIG.68

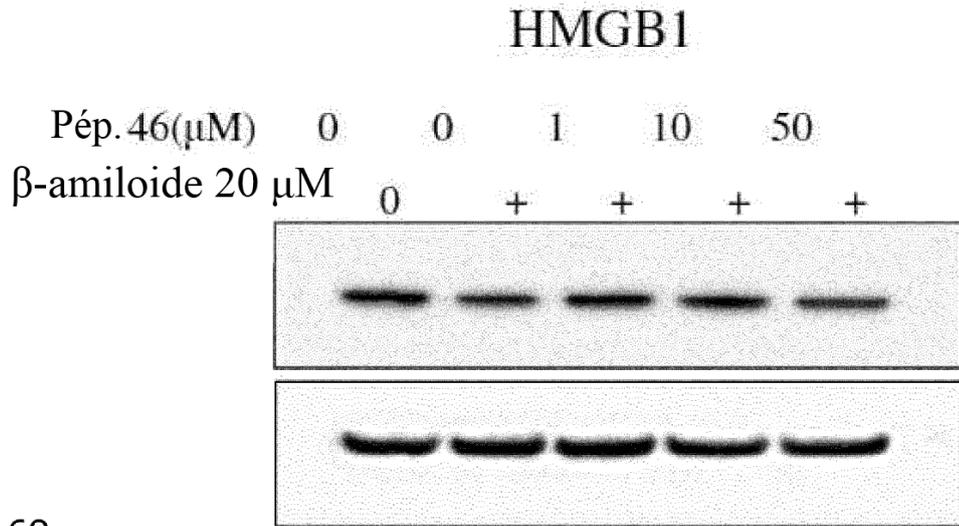


FIG.69

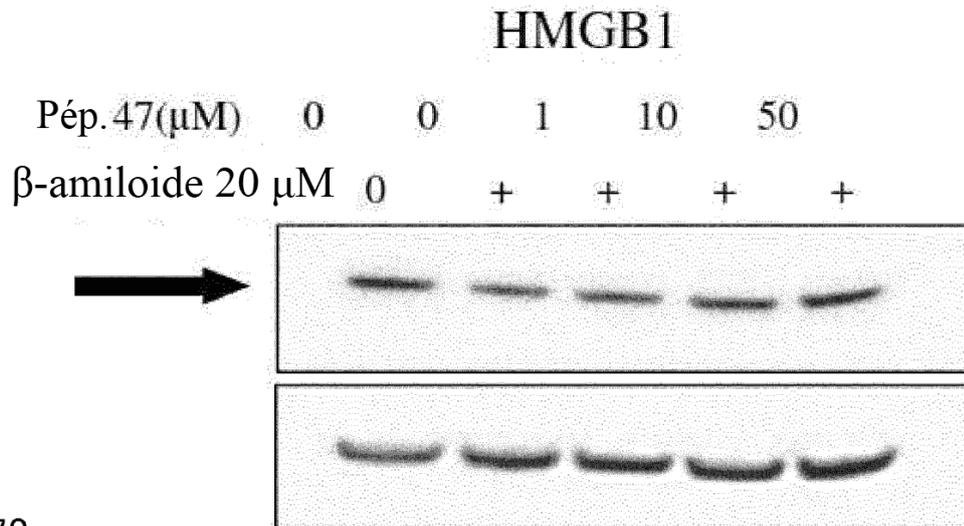


FIG.70

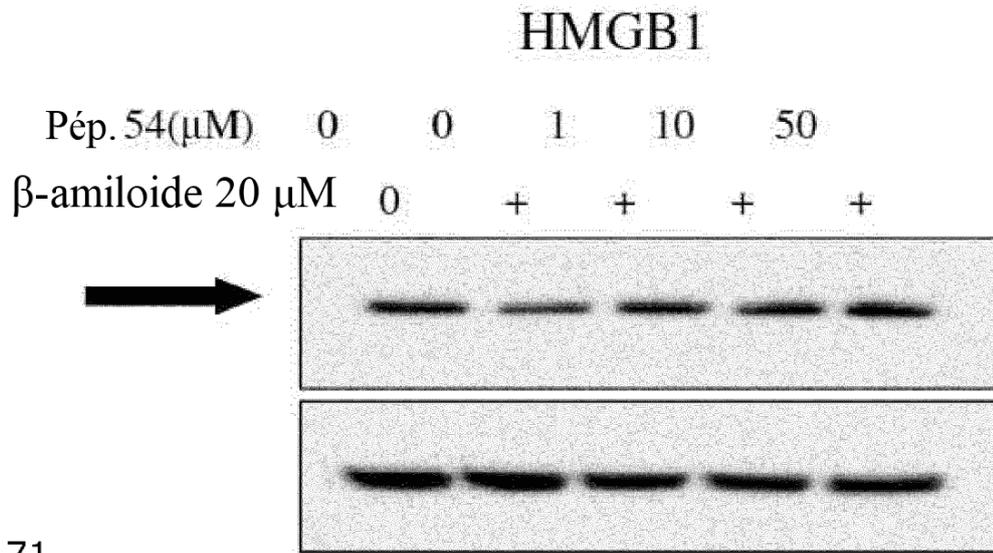


FIG.71

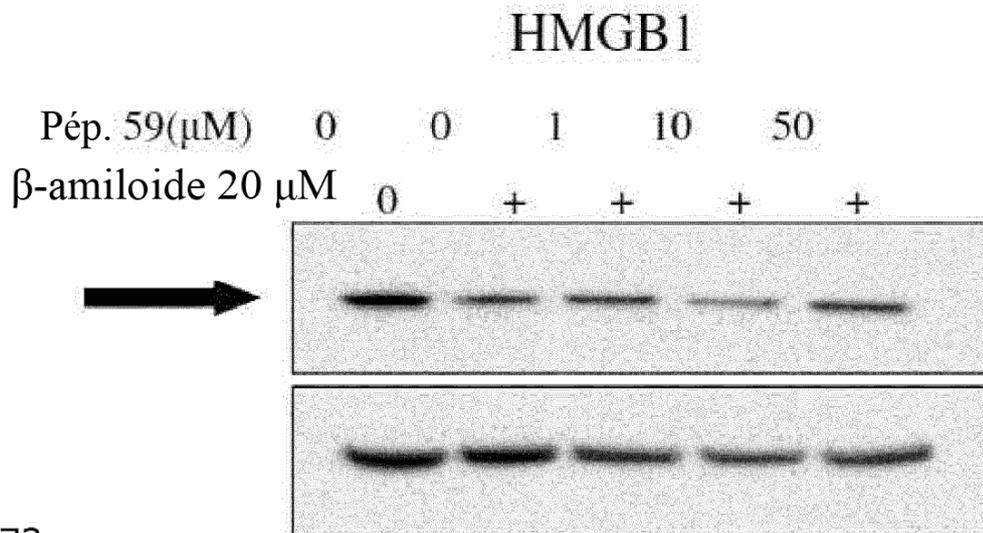


FIG.72

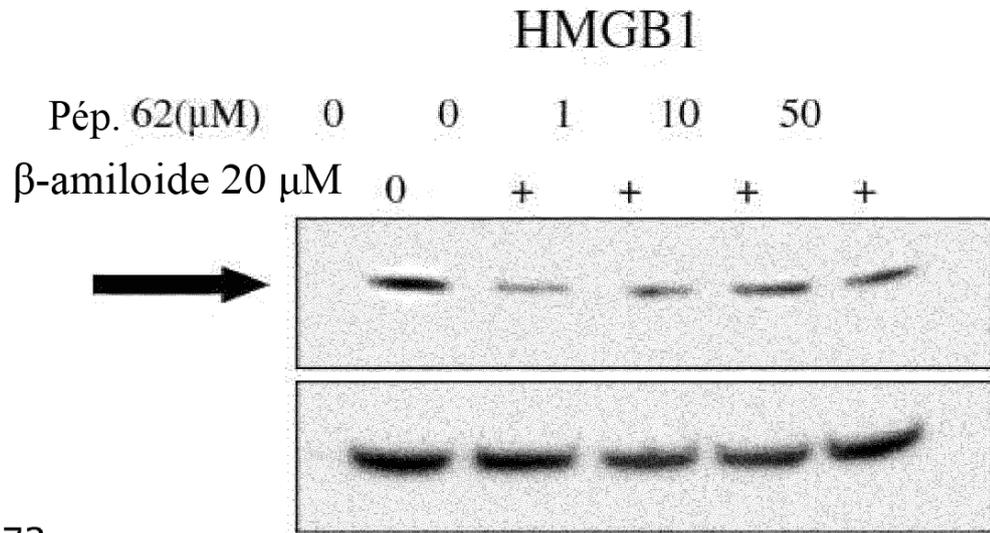


FIG.73

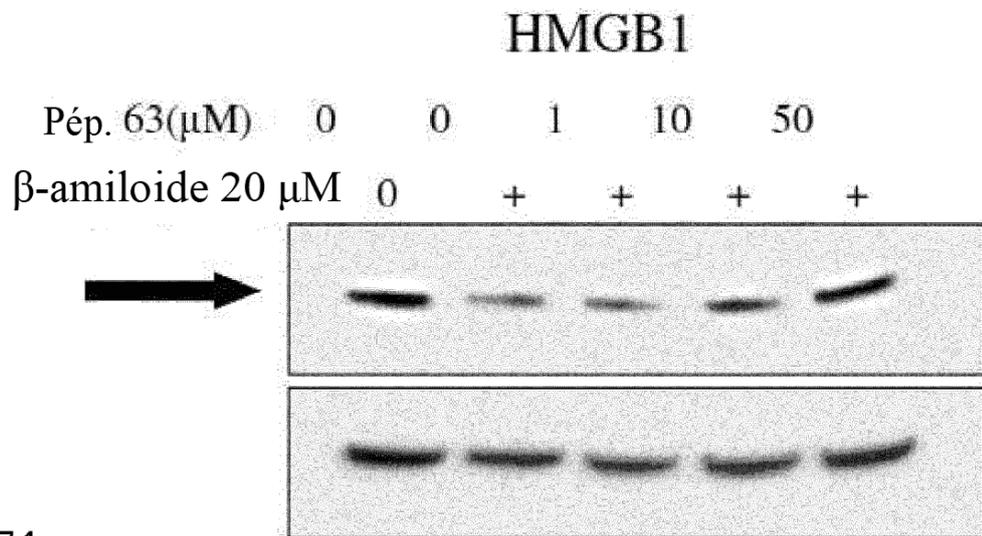


FIG.74

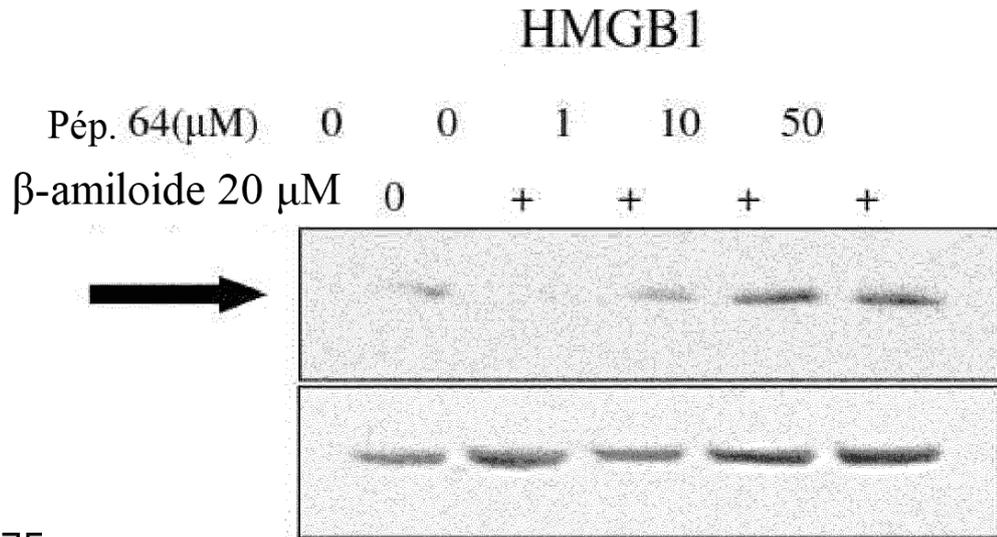


FIG.75

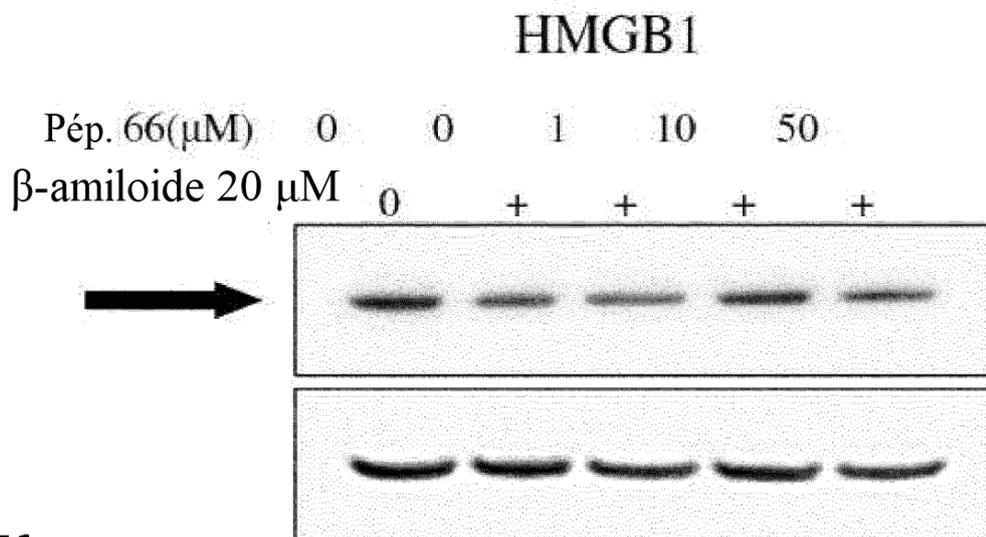


FIG.76

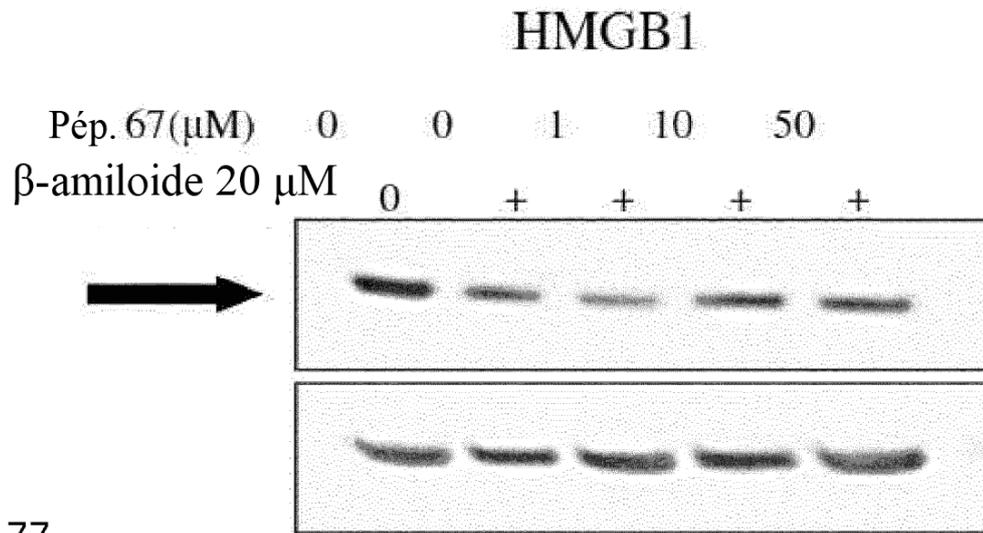


FIG.77

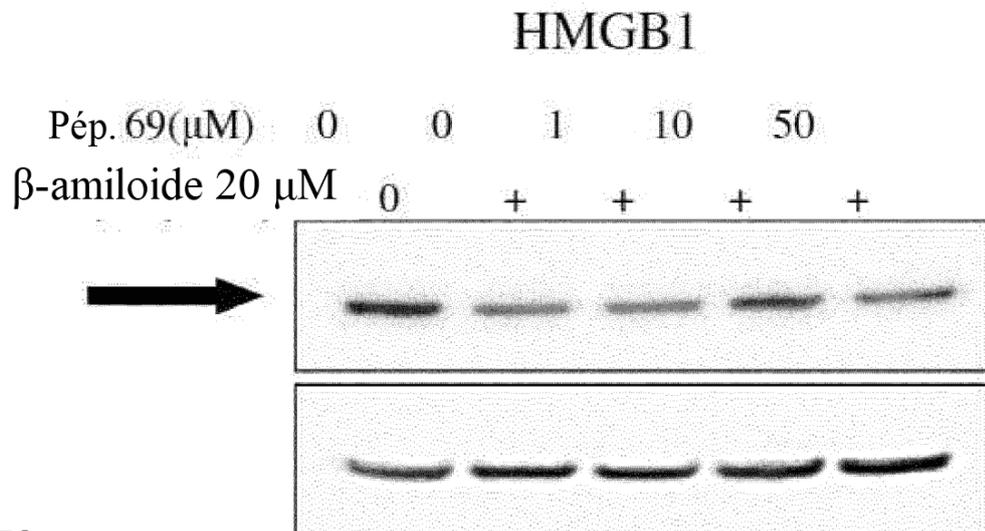


FIG.78

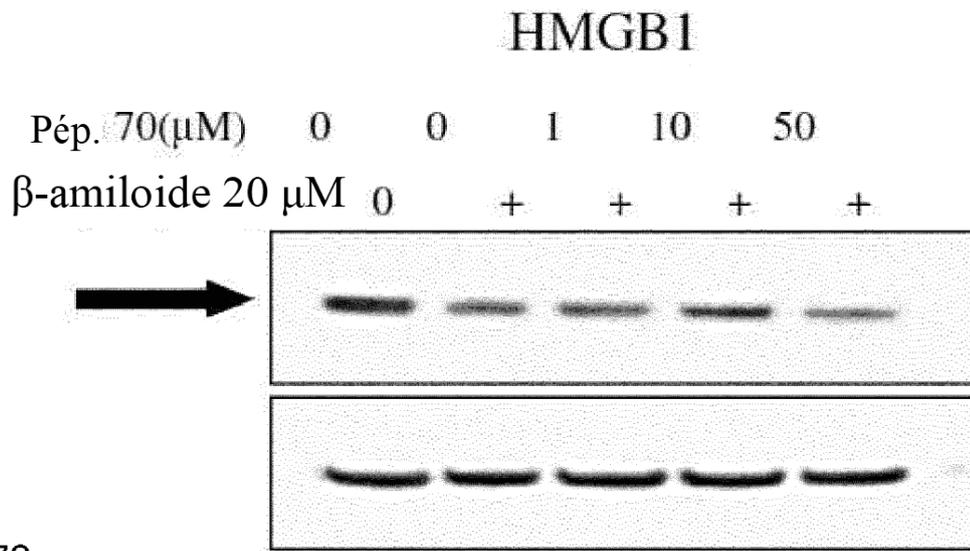


FIG.79

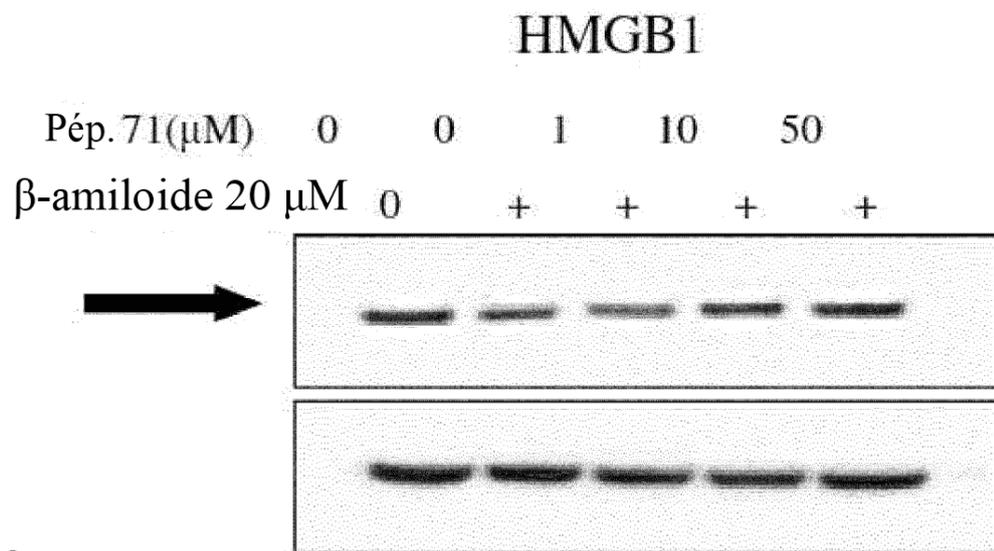


FIG.80

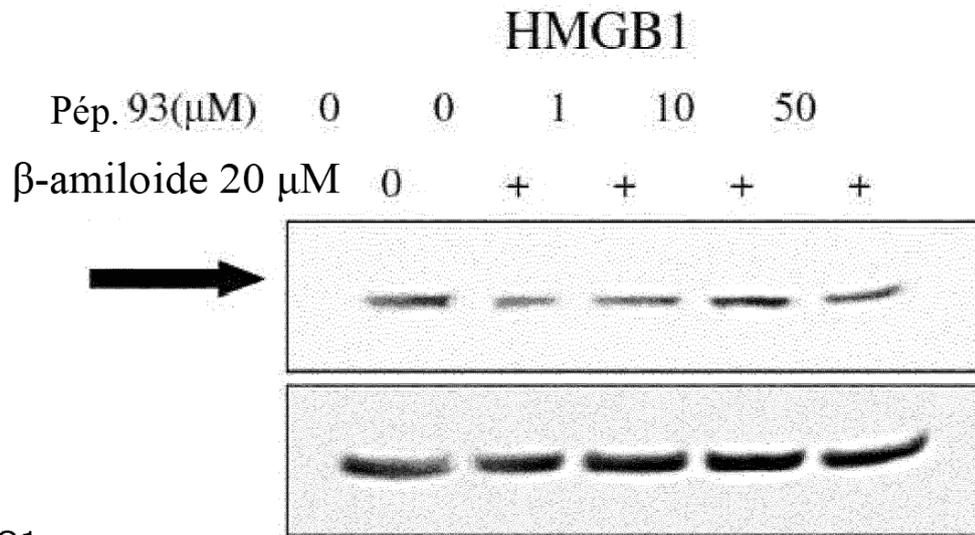


FIG.81

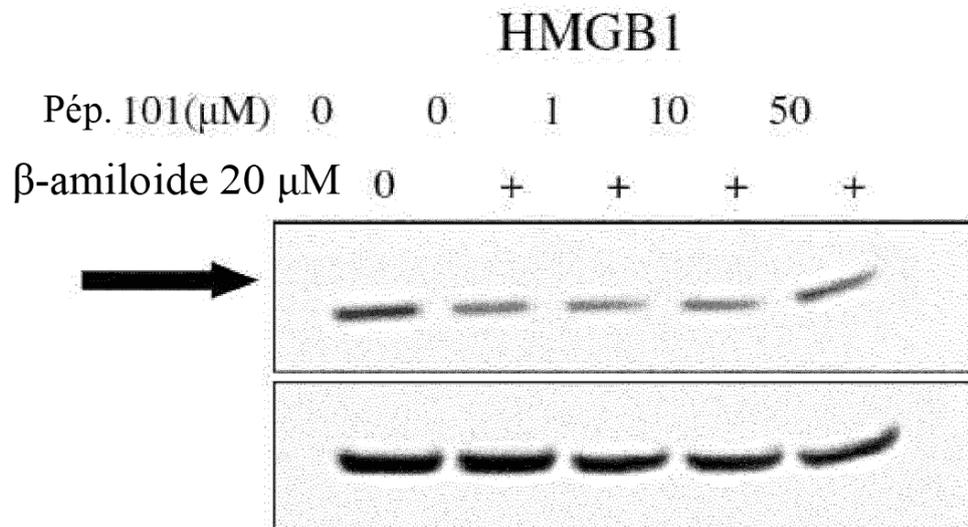


FIG.82

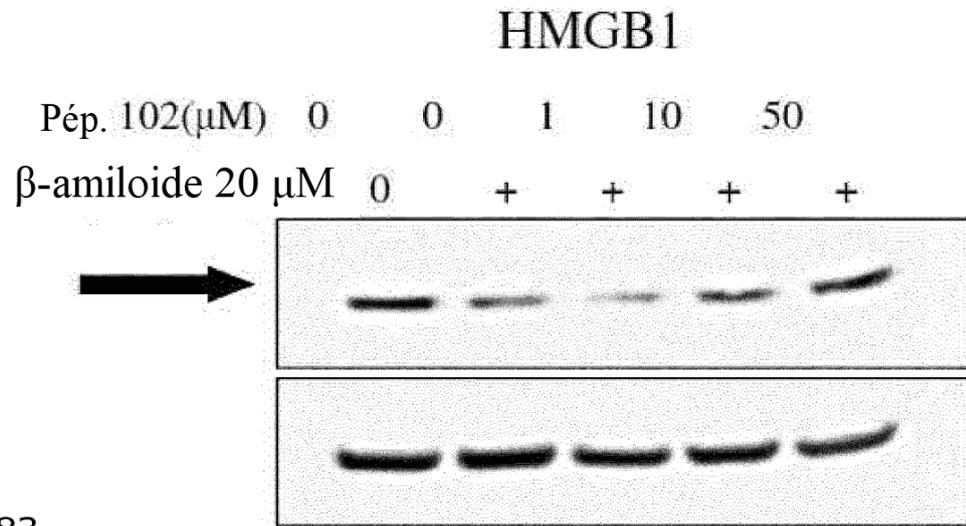


FIG.83

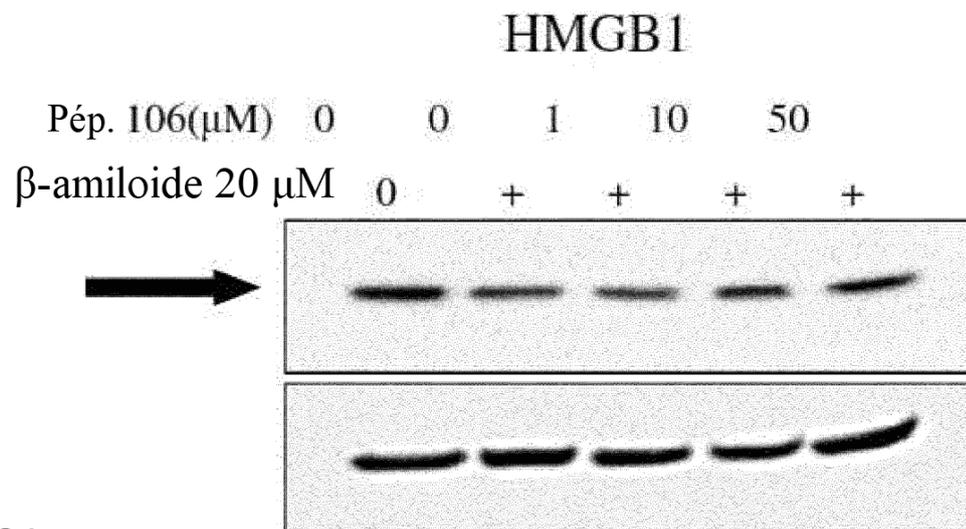


FIG.84

FIG.85

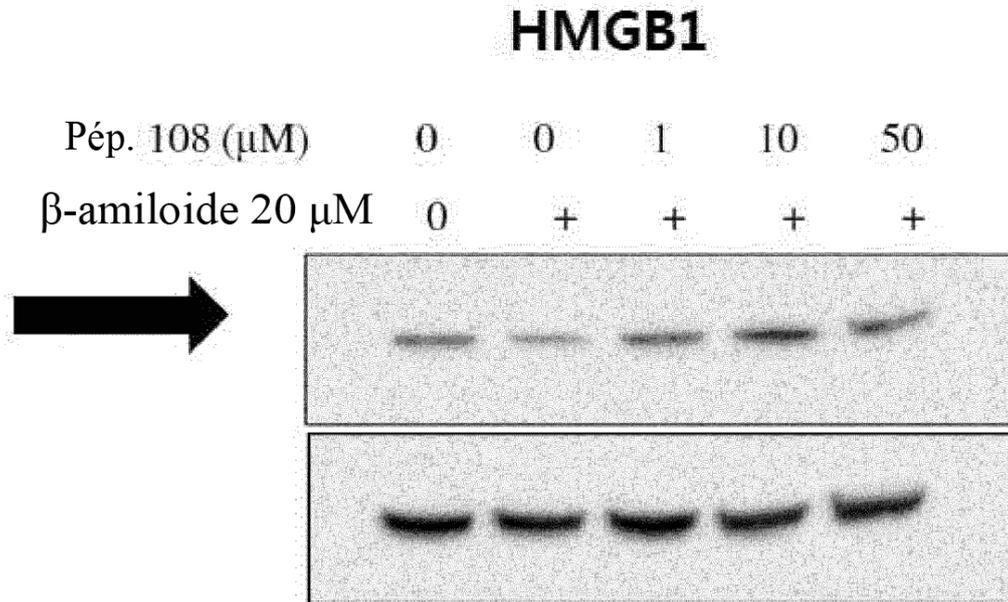


FIG.86

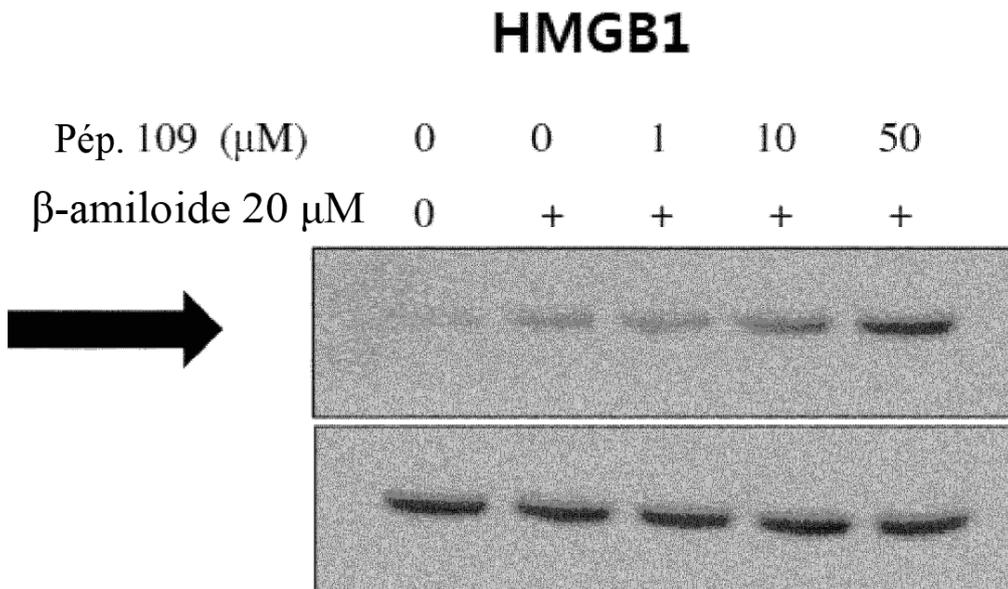


FIG.87

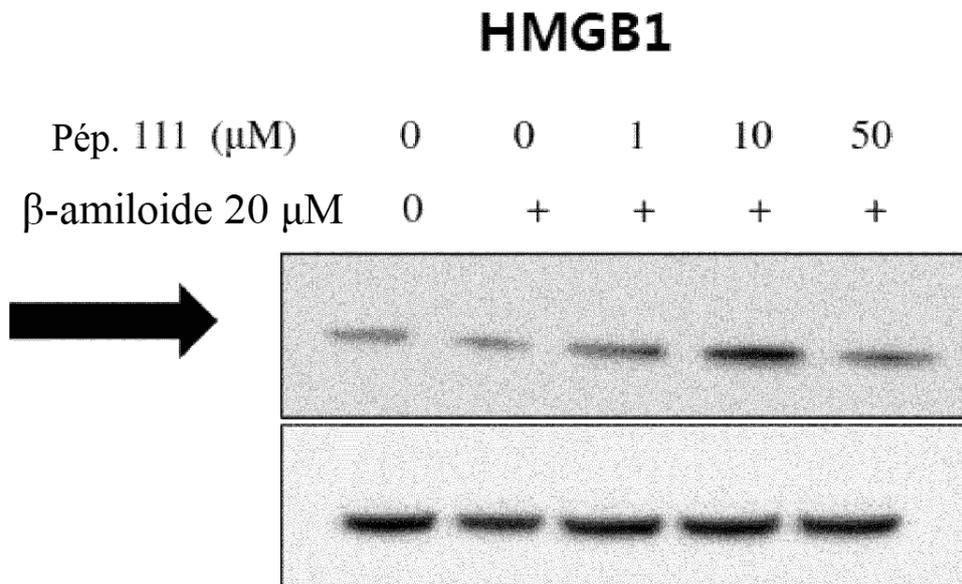
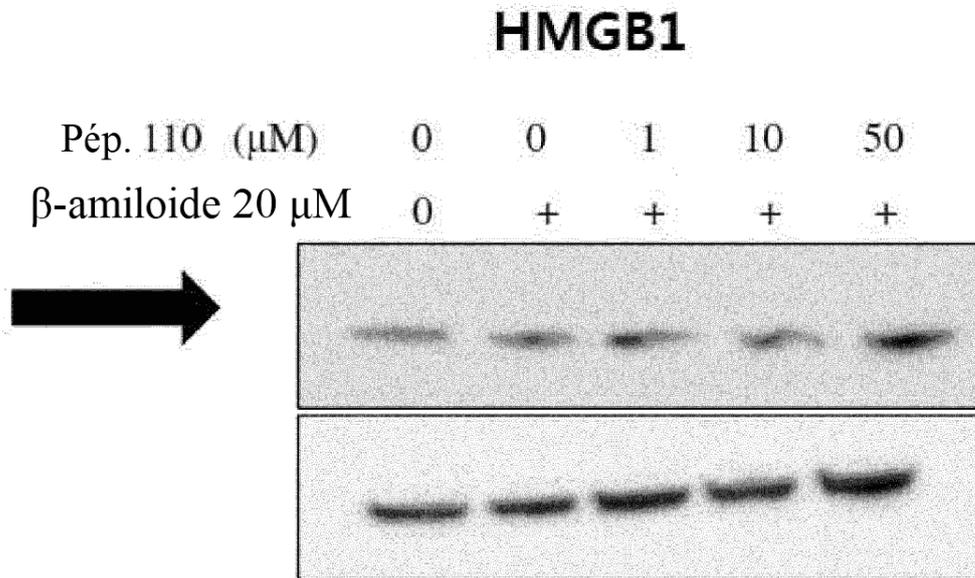


FIG.88

HMGB1

Pép. 113 (μM)	0	0	1	10	50
β-amiloide 20 μM	0	+	+	+	+

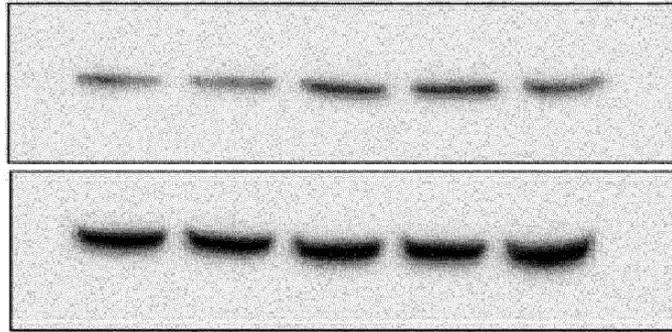


FIG.89

HMGB1

Pép. 114 (μM)	0	0	1	10	50
β-amiloide 20 μM	0	+	+	+	+

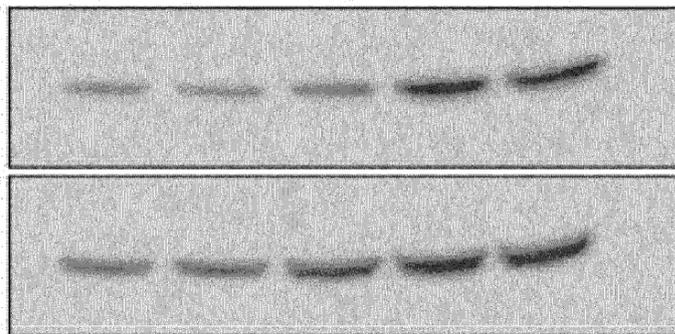


FIG.90

FIG.91

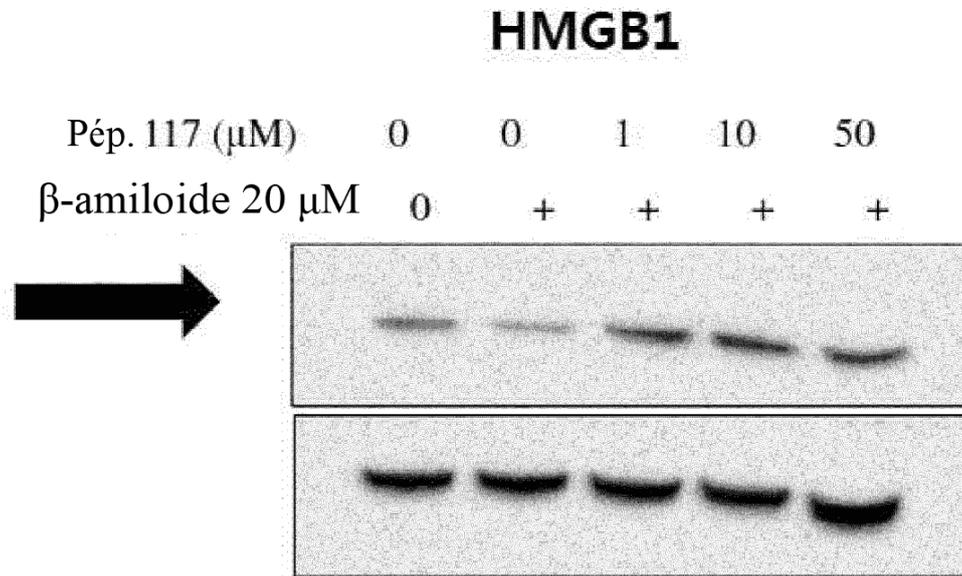
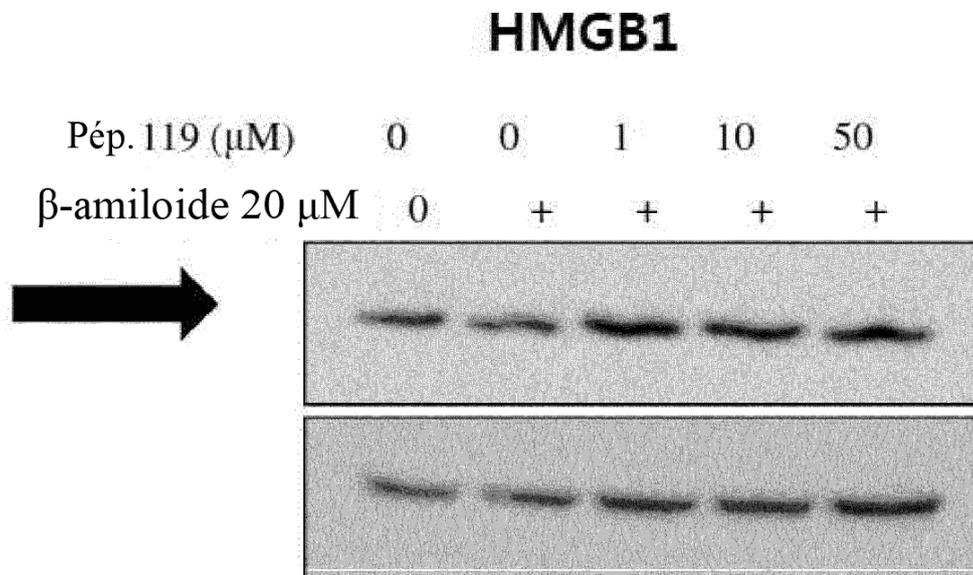


FIG.92



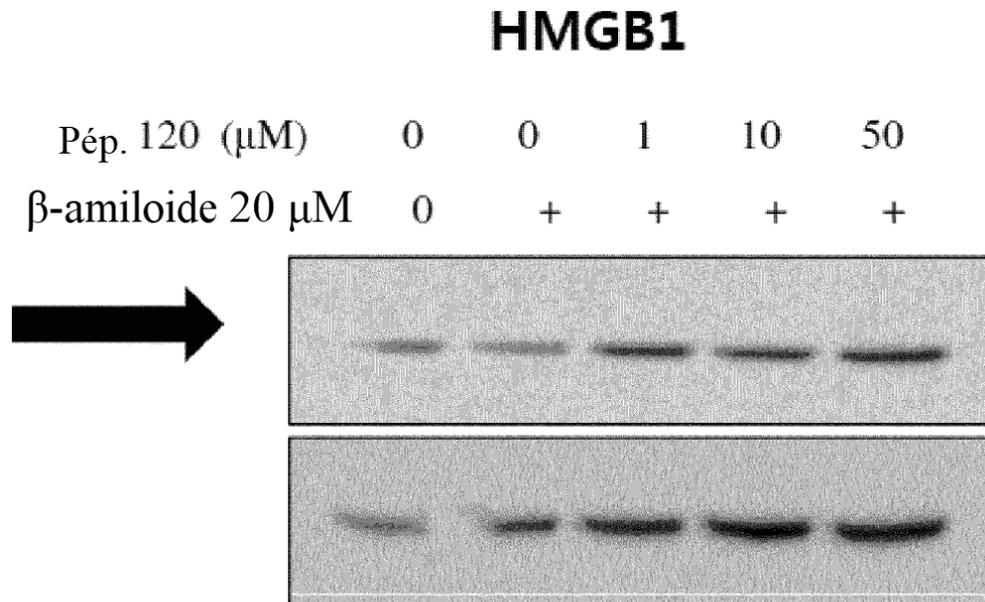


FIG.93

FIG.94

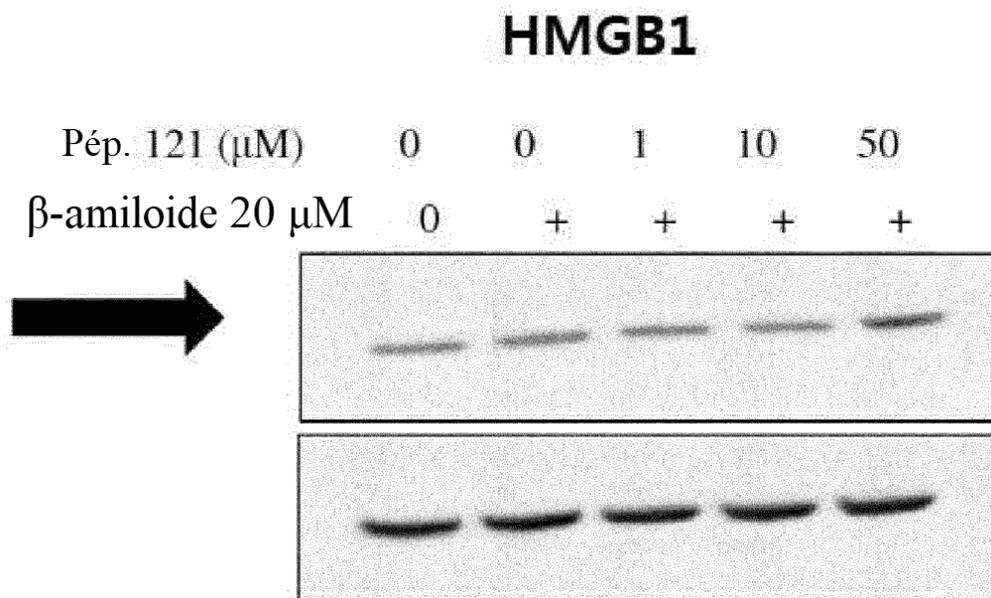


FIG.95

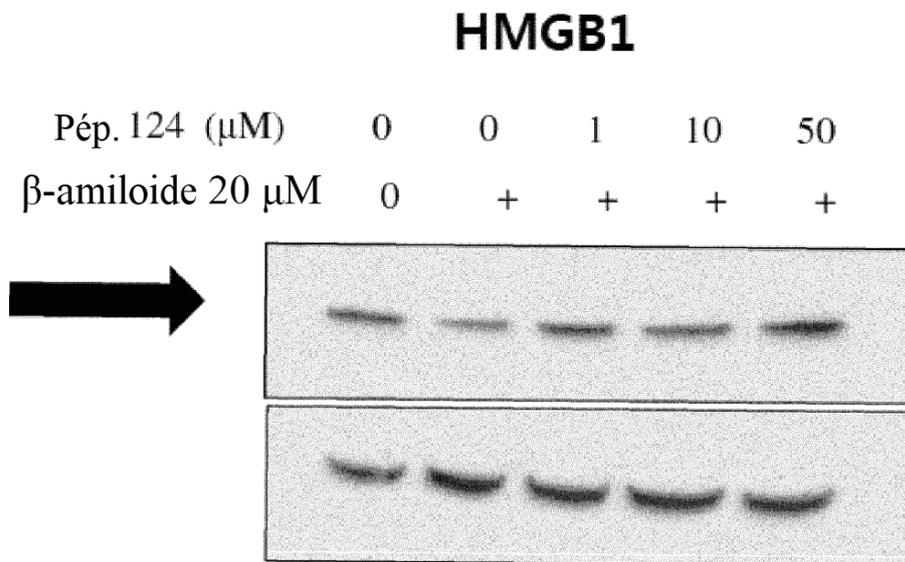
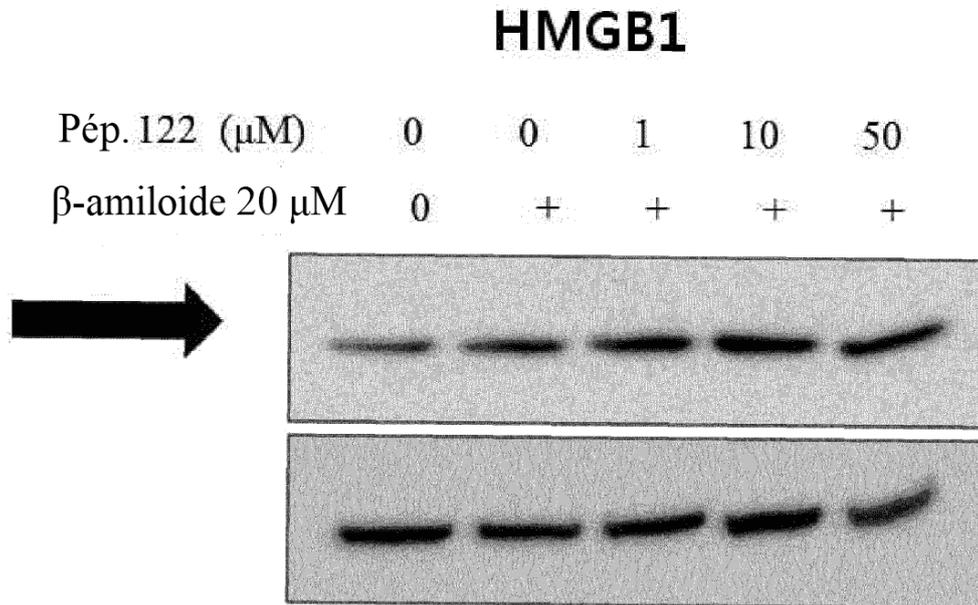


FIG.96

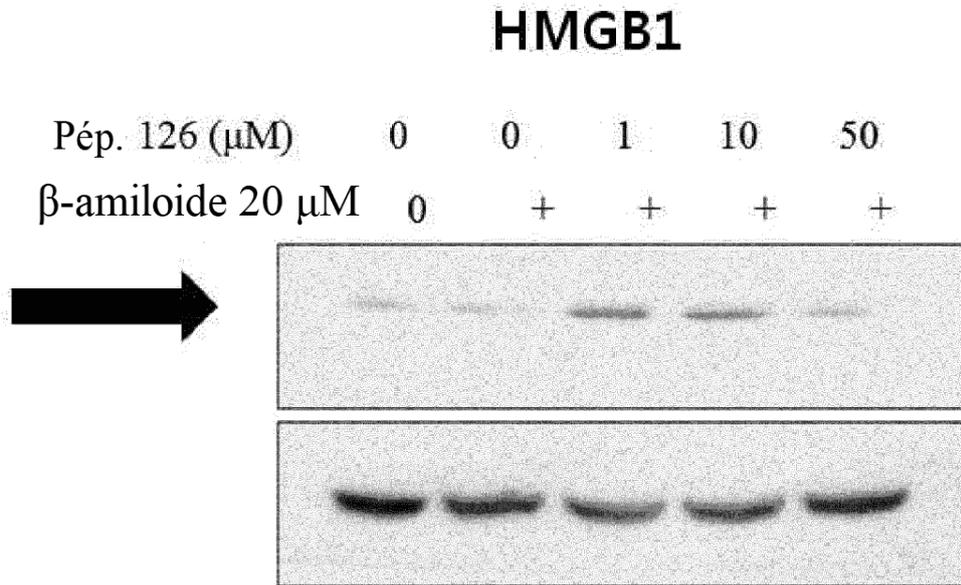


FIG.97

FIG.98

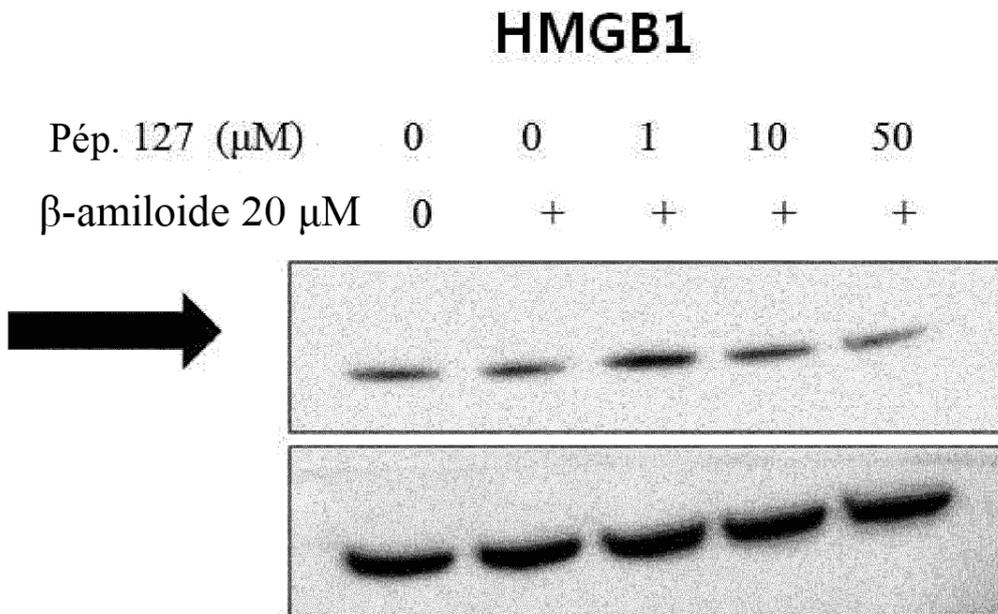


FIG.99

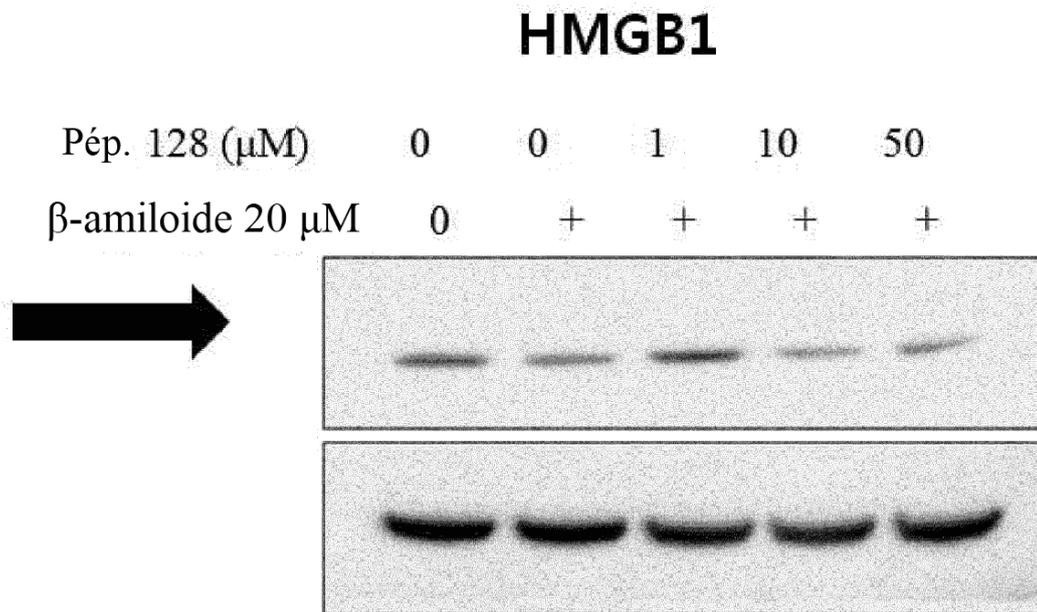


FIG.100

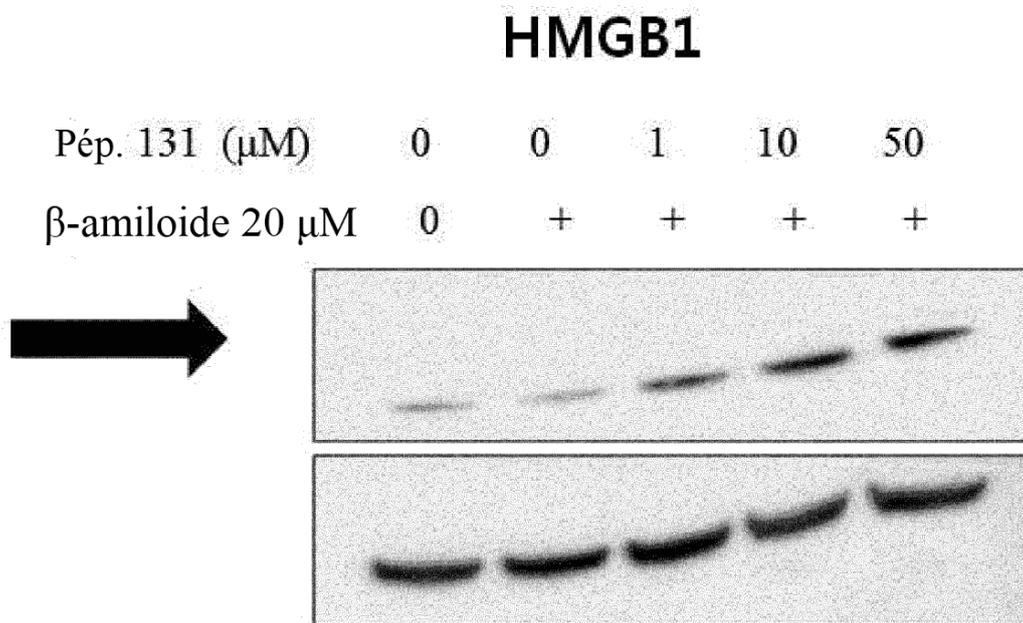


FIG.101

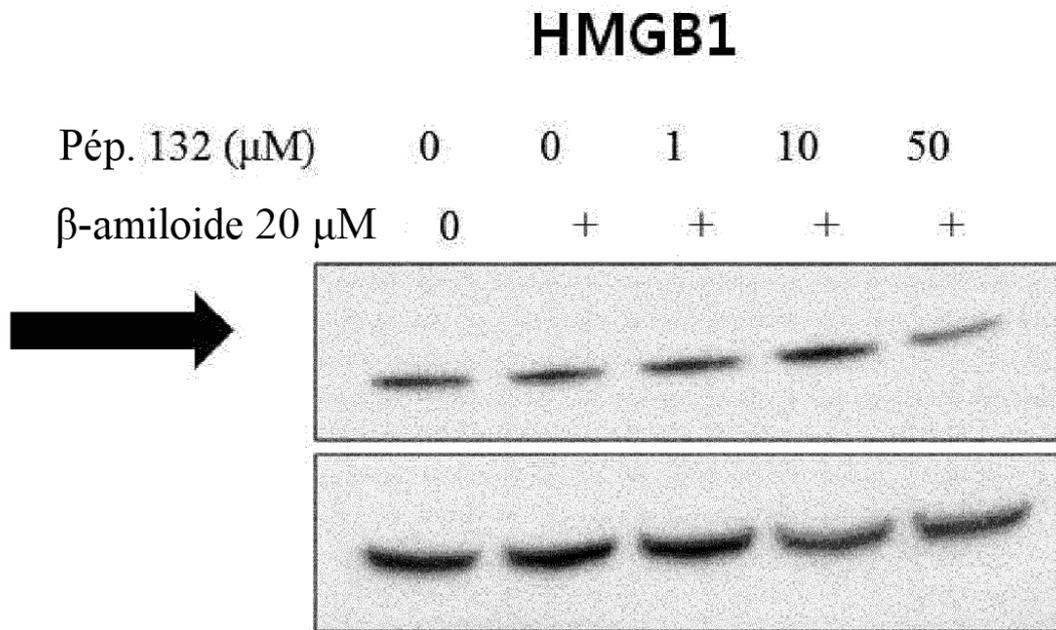


FIG.102

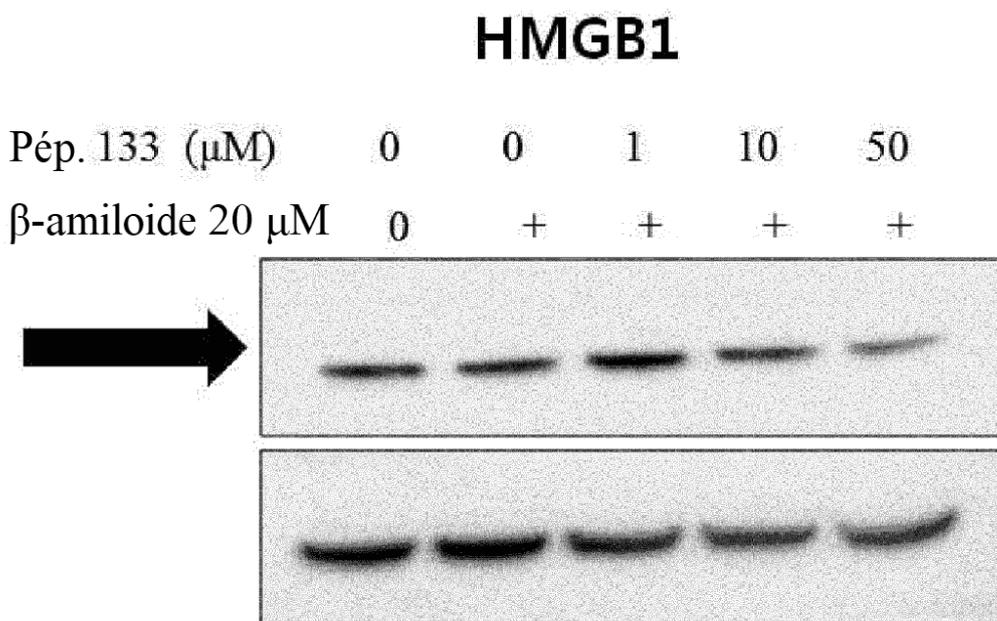


FIG.103

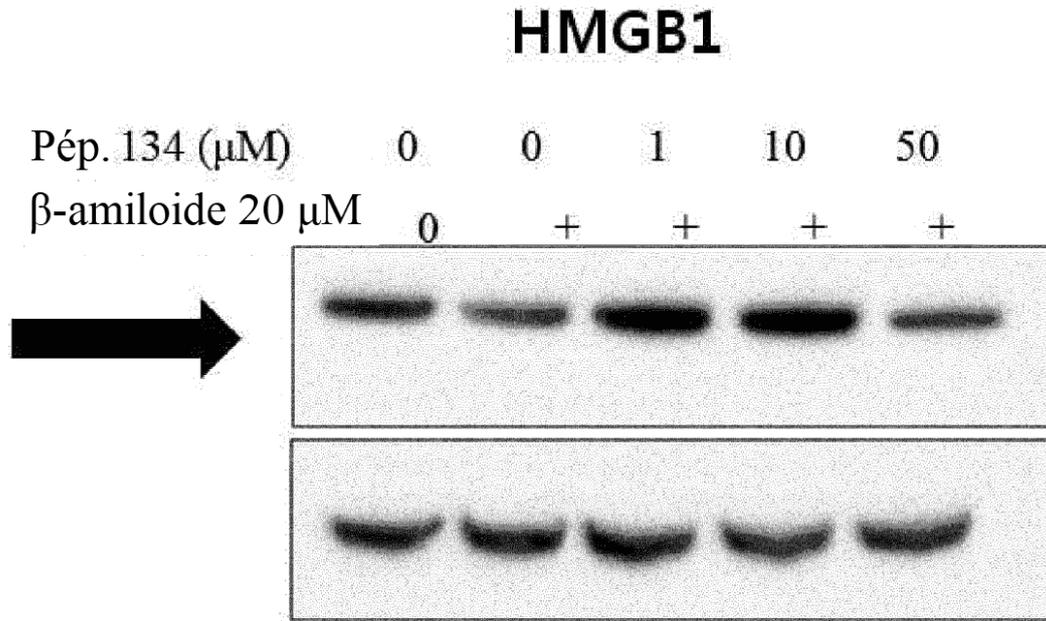


FIG.104

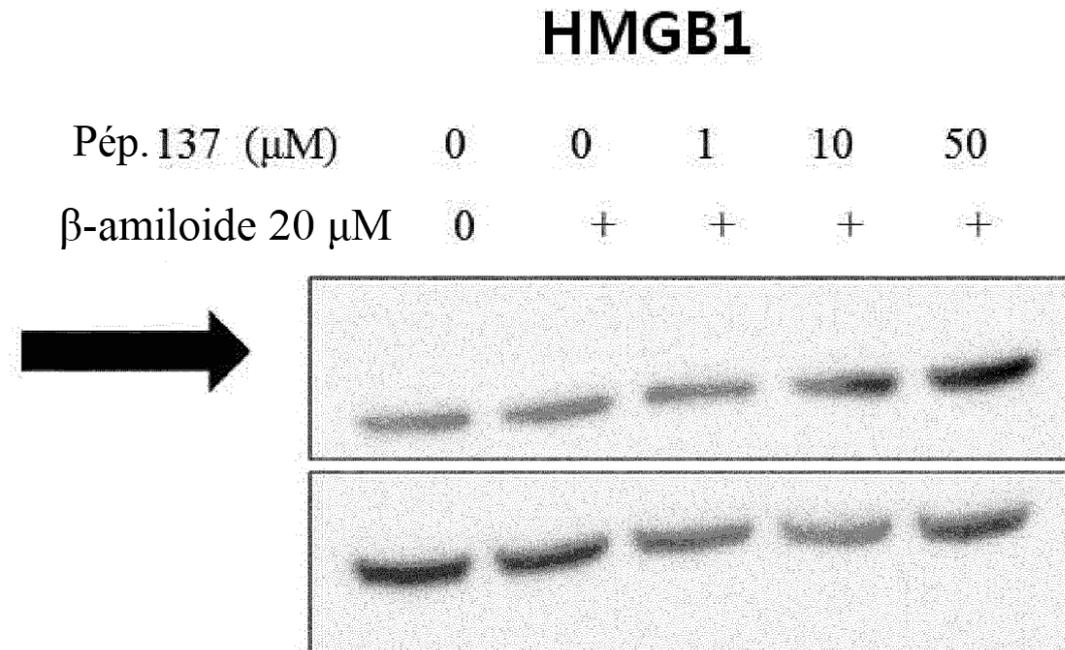


FIG.105

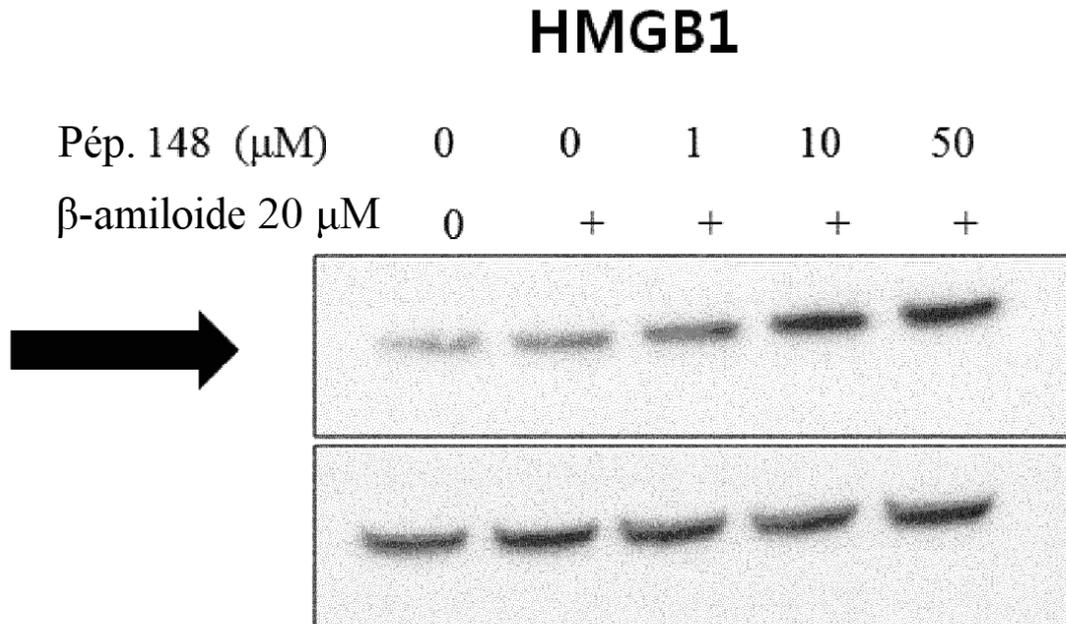


FIG.106

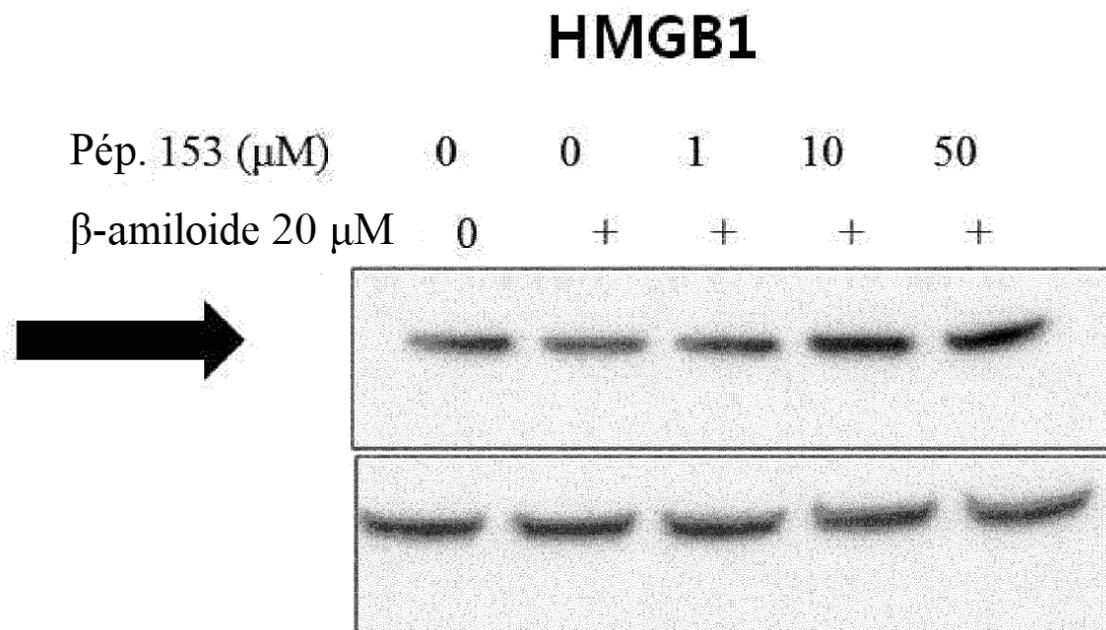


FIG.107

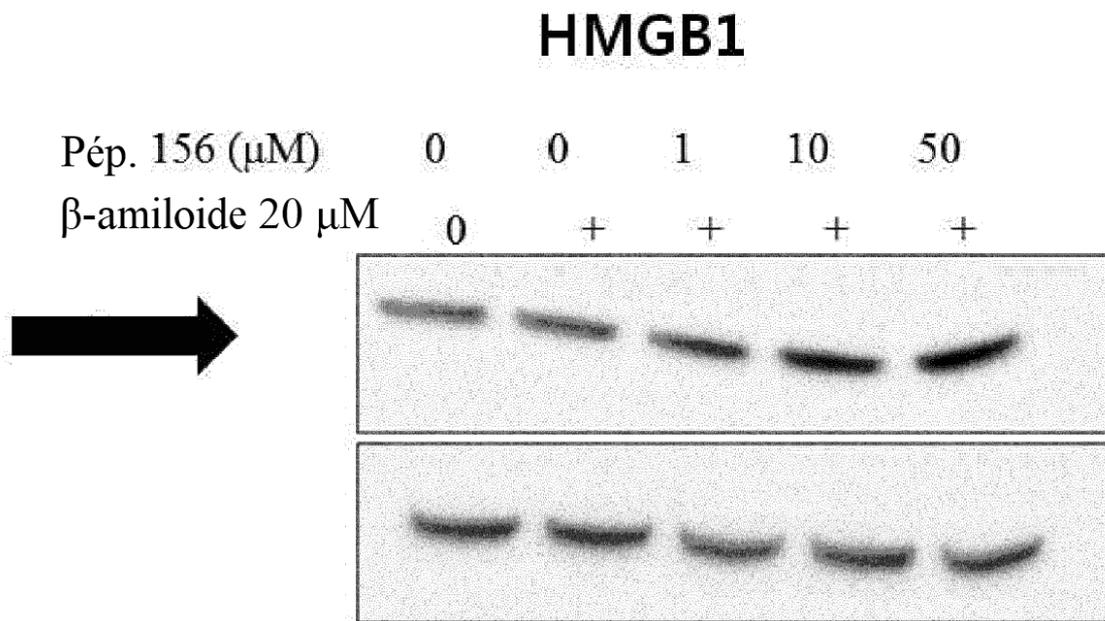


FIG.108

