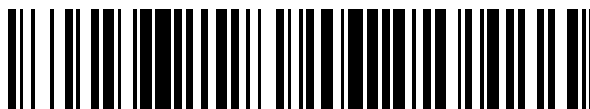


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 773 125**

51 Int. Cl.:

G01N 33/68

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.04.2013 PCT/EP2013/057160**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.10.2013 WO13150126**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.04.2013 E 13718522 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.10.2019 EP 2834643**

54 Título: **Procedimiento para el tratamiento de sangre, productos sanguíneos y órganos**

30 Prioridad:

05.04.2012 DE 102012102999

14.09.2012 DE 102012108598

14.09.2012 DE 102012108599

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

09.07.2020

73 Titular/es:

**FORSCHUNGSZENTRUM JÜLICH GMBH (100.0%)
52425 Jülich, DE**

72 Inventor/es:

WILLBOLD, DIETER

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

Observaciones:

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

ES 2 773 125 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

Procedimiento para el tratamiento de sangre, productos sanguíneos y órganos

- 5 La presente invención se refiere a un procedimiento para el tratamiento (ex vivo) de sangre, productos sanguíneos y órganos para la prevención de la transmisión de la enfermedad de Alzheimer y otras enfermedades basadas en amiloides.

- 10 Debido al desarrollo demográfico en las próximas décadas, aumentará el número de personas que padecen enfermedades relacionadas con la edad. En este contexto cabe mencionar la denominada enfermedad de Alzheimer (EA, demencia de Alzheimer, latín = Morbus Alzheimer).

- 15 Una característica de la enfermedad de Alzheimer son los depósitos extracelulares del péptido beta amiloide (péptido A-beta, Aβ o péptido Aβ). Esta deposición del péptido A-beta en placas se encuentra típicamente en los cerebros *post mortem* de pacientes con EA. Por lo tanto, se consideran diferentes formas del péptido A-beta como, por ejemplo, las fibrillas, responsables de la aparición y progresión de enfermedades. Además, desde hace algunos años, se ven los pequeños oligómeros A-beta libremente difusibles como la causa principal del desarrollo y progreso de la EA.

- 20 Los monómeros A-beta, como componentes básicos de los oligómeros A-beta, se producen constantemente en el cuerpo humano y probablemente no sean tóxicos por sí mismos. Los monómeros A-beta pueden acumularse de forma aleatoria según su concentración. La concentración depende de su velocidad de formación y descomposición en el cuerpo. Si la concentración de monómeros A-beta en el cuerpo aumenta con la edad, el ensamblaje espontáneo de los monómeros en oligómeros A-beta es cada vez más probable. Los oligómeros A-beta resultantes
25 podrían multiplicarse de manera análoga a los priones y finalmente conducir a la enfermedad de Alzheimer.

- Una diferencia importante entre la prevención y el tratamiento o incluso la cura de la EA radica en el hecho de que la prevención se puede lograr simplemente evitando la formación de los primeros oligómeros A-beta. Para ello son suficientes unos pocos ligandos A-beta, que no son muy afines y selectivos con respecto a los oligómeros A-beta.

- 30 La formación de los oligómeros A-beta a partir de muchos monómeros es una reacción de orden alto y, por lo tanto, altamente dependiente de la concentración de monómeros A-beta. Por lo tanto, incluso una pequeña reducción en la concentración activa de monómero A-beta evita la formación de los primeros oligómeros A-beta. La prevención anterior se basa en este mecanismo.

- 35 Sin embargo, se puede suponer una situación completamente diferente en el tratamiento de la EA. Esto se debe a que en este caso están presentes oligómeros A-beta o, posiblemente, polímeros o fibrillas más grandes, que han sido creados por la multiplicación de los oligómeros en una forma similar a la de los priones. En este caso se trata de una reacción de orden bajo y apenas dependiente de la concentración de monómeros A-beta.

- 40 Hasta la fecha, no hay ningún medicamento aprobado para el tratamiento causal de la demencia de Alzheimer (DA). Típicamente, se encuentran en los cerebros *post-mortem* de los pacientes con EA los depósitos del denominado péptido beta-amiloide (Aβ o A-Beta) en placas. Por lo tanto, desde hace mucho tiempo, se consideran diferentes formas del oligómero Aβ, por ejemplo, las fibrillas, responsables del desarrollo y la progresión de la EA. Desde hace
45 algunos años, se consideran sobre todo los pequeños oligómeros Aβ libremente difusibles responsables del desarrollo y la progresión de la EA. Los monómeros Aβ se forman constantemente en el cuerpo humano y probablemente no son tóxicos por sí mismos. Se especula si los monómeros Aβ, en función de su concentración, se acumulan de forma aleatoria y, por lo tanto, con el aumento de la edad es cada vez más probable que formen oligómeros Aβ de forma espontánea. Una vez formados, los oligómeros Aβ podrían multiplicarse a través de un
50 mecanismo similar al de los priones y finalmente provocar la enfermedad. Desde hace algún tiempo se analiza si las enfermedades priónicas similares a la EA pueden, en principio, transmitirse de persona a persona. Lo mismo se aplica a todas las enfermedades asociadas a los amiloides (por ejemplo, la enfermedad de Parkinson). En particular, una posible transmisión por transfusión sanguínea, la administración de productos sanguíneos y los trasplantes de órganos podrían suponer un riesgo masivo para la salud de los receptores si no se aplican los procedimientos de
55 ensayo y prevención adecuados. En este contexto, la bibliografía no científica ha reportado la EA prematura en un ratón transgénico tras el intercambio de su sangre completa por la de un ratón enfermo.

- Sobre la base de estas consideraciones, debe existir la posibilidad de liberar la sangre, los productos sanguíneos y los órganos de las partículas infecciosas mediante un tratamiento (profiláctico o preventivo), o de inactivarlas. El
60 objetivo debería ser eliminar o destruir completamente los oligómeros Aβ tóxicos, es decir, detoxificarlos y de esa manera evitar su multiplicación similar a la de los priones.

- Del estado de la técnica, se conocen varios procedimientos para la eliminación de sustancias biológicamente nocivas, biopartículas, moléculas y depósitos proteínicos patológicos. Por ejemplo, hay una investigación según la
65 cual se utilizan nanoimanes para limpiar la sangre de una toxina en unos pocos minutos de forma específica. También se ha descrito la eliminación del colesterol LDL de la sangre mediante absorción directa de lipoproteínas

(DALI).

La inmovilización de anticuerpos o péptidos se describe en los documentos DE 600 26 983 T2 o US 5,968,820.

- 5 Además, a partir del documento DE 102009037015 A1 se conoce un dispositivo y un procedimiento para la eliminación de sustancias biológicamente nocivas de los fluidos corporales. El aislamiento de células, biopartículas o moléculas de los líquidos se describe en el documento DE 102005063175 A1. Además, se conoce del documento DE 102005031429 A1 un procedimiento para la determinación selectiva de depósitos patológicos de proteínas. Por último, el documento DE 102005009909 A1 describe compuestos para el tratamiento de enfermedades asociadas a las proteínas mal plegadas.

Las sustancias conocidas del estado de la técnica reducen la concentración de monómeros y/u oligómeros A-beta de varias maneras. Por ejemplo, se conocen moduladores de la gamma secretasa que se han utilizado para la prevención en experimentos con animales.

- 15 A partir de los documentos WO 02/081505 y DE 101 17 281 A1 se sabe que diferentes secuencias de D-aminoácidos se unen a los péptidos A-beta. Estas secuencias del documento WO 02/081505 de D-aminoácidos se unen a los péptidos beta amiloides con constante de disociación K_D de 4 μ M.

- 20 A partir del documento WO 2011/147797 se conocen compuestos híbridos, que consiste en aminopirazoles y péptidos que previenen la oligomerización de A-beta.

Sin embargo, no se da a conocer un uso de estos compuestos para la purificación de la sangre, productos sanguíneos y/o órganos.

- 25 Con muchas sustancias que han mostrado resultados positivos en experimentos con animales, no se pudo confirmar este efecto en ensayos clínicos en humanos. En los ensayos clínicos de fase II y III, solo se puede tratar a personas con un diagnóstico claro de la EA. En este caso, ya no es suficiente una pequeña reducción de la concentración de monómeros A-beta para prevenir mayores cantidades de oligómeros A-beta y/o para influir en la evolución de la enfermedad.

- 30 Hasta la fecha, la demencia de Alzheimer se diagnostica principalmente a través de pruebas neuro-psicológicas, mediante experimentos en personas en las que ya se han detectado los síntomas. Sin embargo, se sabe que los oligómeros A-beta y las subsiguientes fibrillas y placas pueden desarrollarse en el cerebro de los pacientes hasta 20 años antes de la aparición de los síntomas, y ya pueden haber causado un daño irreversible. Sin embargo, aún no se dispone de posibilidades de diagnosticar la EA antes del inicio de los síntomas.

- Además, el documento WO 2010/062570 A2 da a conocer una composición para el tratamiento y/o prevención de la enfermedad de Alzheimer.

- 40 Sundaram y cols. INTERNATIONAL JOURNAL OF PEPTIDE RESEARCH, 18(2) 2012 se refieren al péptido retro-inverso, ffvIk, que se une a fibrillas artificiales del A β con una afinidad moderada.

- 45 El documento WO 2004/056318 A2 da a conocer procedimientos para tratar la amiloidosis en humanos mediante la eliminación de los péptidos amiloides de uno o más fluidos corporales.

El documento WO 2006/005706 A2 da a conocer un procedimiento para la prevención o el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

- 50 El documento US 2005/158306 A1 da a conocer un procedimiento para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

El documento WO 2011/147797 A2 se refiere a un compuesto híbrido basado en derivados de aminopirazol y péptidos para su uso como agente terapéutico en el tratamiento de enfermedades.

- 55 Funke y cols. CURRENT PHARMACEUTICAL DESIGN, 18(6) 2012 describen los péptidos desarrollados para el diagnóstico y la terapia de la EA y las ventajas y desventajas de medicamentos peptídicos.

- 60 El documento WO 02/081505 A2 da a conocer péptidos que se unen al péptido beta-amiloide con una alta afinidad de unión.

Müller-Schiffmann y cols., ANGEW. CHEMIE INTERNATIONAL EDITION, 49(46), 2010 describen compuestos híbridos que consisten en una fracción orgánica D enantiomérica de ruptura de hojas β y una fracción D enantiomérica de reconocimiento de péptidos A β .

- 65 Bartinek y cols. REJUVENANT RESEARCH, 13(2-3), 2010 dan a conocer péptidos enantioméricos D que se unen a

Aβ.

Zhang G. y cols. *Bioconjugate Chemistry*, 14(1), 2003 dan a conocer que la formación de placas amiloides β en la enfermedad de Alzheimer se desencadena por el contacto intermolecular de la secuencia de 5 aminoácidos KLVFF en péptidos β-amiloides con un tamaño de 40 a 43 residuos.

Sidhartha y cols, *ChemBioChem*, 8(15), 2007, dan a conocer un dendrímero de cuatro péptidos con el motivo KLVFF.

Stains y cols, *CHEMMEDCHEM*, 2(12) 2007 se refieren a los conocimientos actuales sobre las moléculas que han demostrado interactuar con formas oligoméricas o fibrilares del péptido beta-amiloide.

El documento WO 2007/047967 A2 se refiere a un dispositivo colocado en un paciente con enfermedad de Alzheimer (EA) para extraer péptidos beta-amiloides neurotóxicos (nt-bAP) de los fluidos corporales.

Funke y cols. *MOLECULAR BIOSYSTEMS*, 5(8), 2009 describen un ensayo de visualización de fagos para la identificación de nuevos péptidos D-enantioméricos potencialmente activos terapéuticamente.

Van Groen y cols., *CHEMMEDCHEM*, 3(12), 2008, Funke y cols. *ACS Chemical Neuroscience*, 1(9), 2010, y Hongmei y cols. 2009 dieron a conocer que el péptido D3 se une a los oligómeros A-beta y los elimina.

El objetivo de la presente invención es, por tanto, liberar la sangre, productos sanguíneos y/u órganos mediante tratamiento de partículas tóxicas y/o infecciosas o inactivar las mismas. El objetivo es eliminar completamente los oligómeros Aβ presentes en sangre, productos sanguíneos u órganos o convertirlos en formas inofensivas.

El objeto de la invención es, por tanto, un procedimiento para el tratamiento fuera del cuerpo humano o animal (in vitro, ex vivo) de sangre, productos sanguíneos y/u órganos mediante la eliminación y/o detoxificación de oligómeros beta amiloides, caracterizado porque se usa el compuesto D-enantiomérico rprtrlhthmrrprtrlhthmr (D3D3, SEC ID N°: 13), que se une a los oligómeros beta amiloides.

La sangre tratada puede ser obtenida de un banco de sangre y/o almacenada en un banco de sangre después del tratamiento.

Además, es posible aplicar el procedimiento según la invención de forma preventiva a personas sanas. La sangre de estas personas que no muestran síntomas de EA se elimina de cualquier oligómero beta-amiloide que pueda estar presente, sin referencia a etapas del tratamiento terapéutico del cuerpo humano o animal.

Los oligómeros Aβ se pueden eliminar, por ejemplo, al añadir microesferas a la sangre, que se unen a o retienen los oligómeros Aβ. Para el tratamiento de muestras de sangre, las sustancias que se unen a oligómeros Aβ se pueden unir a microesferas magnéticas. Un ejemplo de microesferas son las Dynabeads de la empresa Dynal. Dynabeads® M-280 Streptavidin (Dynal A.S., Oslo) son microesferas supramagnéticas que están unidas covalentemente a estreptavidina purificada, que se une a la biotina con alta afinidad ($K_D = 10^{-15}$). Posteriormente, estas microesferas con los oligómeros Aβ ligados a ellas pueden ser eliminadas, por ejemplo, mediante cromatografía de afinidad, filtración, sedimentación por exclusión de tamaño o centrifugación.

En una variante de la invención, los oligómeros Aβ pueden ser eliminados pasando la sangre y/o la muestra de sangre sobre una superficie que une o retiene los oligómeros Aβ. Según la invención, las moléculas que se unen a o detoxifican los oligómeros Aβ (las denominadas moléculas de captura) pueden estar dispuestas en un portador sobre el que se pasa la muestra líquida. En una variante, la inmovilización de las moléculas de captura también es posible con la ayuda de nanoimanes. También es posible la disposición de las moléculas de captura en un sistema de diálisis. En otra variante, las moléculas de captura pueden consistir en un material biocompatible. Los portadores también pueden ser membranas, filtros, esponjas de filtro, microesferas, varillas, cuerdas, columnas y fibras huecas.

En otra variante adicional relativa a los órganos, los oligómeros Aβ pueden eliminarse dirigiendo las moléculas de captura sobre y/o a través de un órgano (in vitro/ex vivo).

En otra variante de la invención, los oligómeros Aβ pueden ser inactivados por adición de una sustancia que convierte los oligómeros Aβ en formas no tóxicas, no amiloidogénicas y no infecciosas.

Como sustancias inactivadoras de los oligómeros Aβ o como sustancias que se unen a los oligómeros Aβ se pueden usar todos los ligandos modificadores de los oligómeros Aβ, por ejemplo, anticuerpos Aβ o péptidos que se unen a Aβ. Las sustancias a utilizar deben tener la mayor afinidad posible a los oligómeros Aβ. La correspondiente constante de disociación debería estar en el intervalo de μM, preferentemente en el intervalo de nM, particularmente en el intervalo de pM o incluso más bajo. Dado que la molécula de destino del tratamiento terapéutico es un oligómero Aβ y, por tanto, naturalmente una diana polivalente, en una variante de la invención, la sustancia a utilizar para el tratamiento se puede producir a partir de varias copias de una unidad que ya se une de forma eficaz a

oligómeros A β . En ausencia de influencias interferentes (por ejemplo, impedimento estérico), se puede lograr un K aparente de x^n en una unidad de unión a oligómeros A β que se une al oligómero A β con una constante de disociación (K_D) de al menos x . Hay varias posibilidades de lograrlo: las unidades de unión a oligómeros A β (unidades monoméricas) pueden unirse de forma covalente o no covalente (por ejemplo, un grupo de biotina o un tetrámero de estreptavidina). En una variante de la invención, cualquier número de copias puede ser inmovilizado en la superficie de las microesferas.

Para los propósitos de la presente invención, el término oligómeros beta-A significa agregados beta-A como también oligómeros beta-A y también oligómeros beta-A pequeños libremente difusibles. El oligómero en el sentido de la invención es un polímero formado por 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 monómeros o múltiplos de los mismos.

El presente procedimiento se realiza fuera del cuerpo humano o animal. Los términos utilizados para ello son in vitro o ex vivo.

En una realización, los polímeros son péptidos. Estos consisten en D-aminoácidos.

Para los fines de la presente invención, el término "sustancialmente de D-aminoácidos" significa que los monómeros a usar están formados al menos en un 60 %, preferentemente en un 75 %, 80 %, con especial preferencia en un 85 %, 90 %, 95 %, en particular en un 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 100 % por D-aminoácidos.

En una variante, se usan monómeros que se unen a un monómero A-beta y/o a oligómeros A-beta y/o a fibrillas del péptido A-beta con una constante de disociación (valor K_D) de un máximo de 500 μ M, preferentemente 250, 100, 50 μ M, con especial preferencia 25, 10, 6 μ M, en particular 4 μ M.

El polímero contiene 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más de los monómeros descritos anteriormente.

En una realización adicional no según la invención, los monómeros se seleccionan del grupo que consiste en:

SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, 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:31, SEQ ID NO:32, 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:43, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78 y SEQ ID NO:79, así como homólogos de los mismos.

En otra variante, los polímeros se unen al dominio de multimerización del péptido beta amiloide.

El término "dominio de multimerización" define aquellos dominios del péptido beta amiloide que están involucrados en la interacción de los péptidos beta amiloides entre sí. En una variante, los aminoácidos 10-42 del péptido beta amiloide cumplen esta función.

En otra variante que no es según la invención, los monómeros presentan secuencias que difieren de las secuencias especificadas en hasta tres aminoácidos.

Además, también pueden usarse como monómeros que no son según la invención aquellas secuencias que contienen las secuencias mencionadas anteriormente.

En otra variante que no es según la invención, los monómeros presentan fragmentos de las secuencias mencionadas o presentan secuencias homólogas a las secuencias mencionadas.

"Secuencias homólogas" u "homólogos" en el sentido de la invención significa que una secuencia de aminoácidos presenta una identidad con una de las secuencias de aminoácidos de monómeros mencionadas de al menos un 50, 55, 60, 65, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 %. En lugar del término "identidad", se usan los términos "homólogo" u "homología" como sinónimos en esta descripción. La identidad entre dos secuencias de ácidos nucleicos o secuencias de polipéptidos se calcula por comparación utilizando el programa BESTFIT basado en el algoritmo de Smith, T.F. y Waterman, M.S. (Adv. Appl. Math. 2: 482-489 (1981)) con los siguientes parámetros para los aminoácidos: Gap creation penalty: 8 y Gap extension penalty: 2; y el siguiente parámetro para los ácidos nucleicos: Gap creation penalty: 50 y Gap extension penalty: 3. Preferentemente, la identidad entre dos secuencias de ácido nucleico o secuencias de polipéptidos se

define por la identidad de la secuencia de ácido nucleico/secuencia de polipéptidos en toda la longitud de la secuencia, según se calcula por comparación utilizando el programa GAP basado en el algoritmo de Needleman, S.B. y Wunsch, C.D. (J. Mol. Biol. 48: 443 -453) con los siguientes parámetros para los aminoácidos: Gap creation penalty: 8 y Gap extension penalty: 2; y los siguientes parámetros para los ácidos nucleicos: Gap creation penalty: 50 y Gap extension penalty: 3. Dos secuencias de aminoácidos son idénticas en el sentido de la presente invención si tienen la misma secuencia de aminoácidos.

En una variante, los homólogos se refieren las secuencias retro-inversas correspondientes de los monómeros mencionados anteriormente. Según la invención, el término "secuencia retro-inversa" denota una secuencia de aminoácidos que está compuesta de aminoácidos en forma enantiomérica (inversa: la quiralidad del átomo de alfa-C está invertida) y en la que también se ha invertido el orden de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos original (retro = hacia atrás).

El polímero está compuesto de monómeros idénticos o contiene monómeros diferentes.

En una alternativa que no es según la invención, el polímero está compuesto de **cualquier** combinación de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más de los monómeros descritos anteriormente.

El polímero es un dímero de dos monómeros D3 (SEQ ID NO:13).

En una realización que no es según la invención, el polímero es un dímero de dos monómeros RD2 (RD 2- RD 2: ptlhthnrrrrptlhthnrrrrr (SEQ ID NO: 76).

Los dímeros, por ejemplo, pueden fabricarse por síntesis química o síntesis de péptidos.

En una realización de la invención, los monómeros están unidos covalentemente entre sí. En otra realización que no es según la invención, los monómeros no están unidos covalentemente entre sí.

En el sentido de la invención, una unión o enlace covalente de las unidades de monómero está presente si los péptidos están enlazados de cabeza a cola en una manera lineal sin el uso de enlazadores o grupos de enlazadores en medio.

Existe un enlace no covalente si los monómeros están unidos entre sí a través de biotina y estreptavidina, en particular tetrámero de estreptavidina.

Se puede lograr un enlace covalente acoplando linealmente las unidades de monómero cabeza a cabeza, cola a cola o cabeza a cola, en cada caso sin un enlazador o con un grupo enlazador. Como alternativa, también es posible un enlace en una estructura similar a un árbol (dendrimeros) en una molécula de plataforma o una combinación de estas opciones. También se pueden combinar unidades de monómero no idénticas.

El polímero está caracterizado porque se une a oligómeros beta-amiloides con una constante de disociación de como mucho 1 mM, preferentemente 800, 600, 400, 200, 100, 10 μ M, con especial preferencia 1000, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, 100, 50 nM, con particular preferencia 1000, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, 100, 50 pM, con máxima preferencia de como mucho 20 pM.

El polímero es adecuado para su uso en medicina.

Una realización es un polímero que se puede usar para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Otra realización es un polímero que puede usarse para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson, enfermedad de Creutzfeldt Jakob (CJD), scrapie, encefalopatía espongiforme bovina (EEB) o diabetes.

Los polímeros formados a partir de monómeros, que a su vez se unen a oligómeros A-beta, muestran efectos claros y sinérgicos con respecto a su selectividad y afinidad por los oligómeros A-beta en comparación con los monómeros. En otras palabras: Los polímeros según la invención son superiores a los monómeros. Los efectos sinérgicos en el sentido de la presente invención son efectos que muestran una mayor selectividad y afinidad con respecto a los oligómeros A-beta, en particular el valor K_D con respecto a la unión a oligómeros A-beta que los monómeros individualmente o en su adición.

Debe entenderse que un enlazador significa una o más moléculas que están unidas a los monómeros mediante enlaces covalentes, siendo posible que estos enlazadores también estén unidos entre sí mediante enlaces covalentes.

En una alternativa, los enlazadores no cambian las propiedades del polímero que están predeterminadas por los monómeros, es decir, la unión a los oligómeros A-beta.

En otra alternativa, los enlazadores provocan un cambio en las propiedades del polímero, que están

predeterminadas por los monómeros. En dicha realización, la selectividad y/o afinidad de los polímeros con respecto a los oligómeros A-beta aumenta y/o la constante de disociación se reduce. En una realización adicional, los enlazadores se seleccionan o pueden estar dispuestos de modo que cambien el efecto estérico de los polímeros de tal manera que solo se unan selectivamente a oligómeros A-beta de un tamaño determinado.

5 Dicho cambio en el efecto estérico de los polímeros también puede lograrse mediante la estructura de polímeros ramificados, mediante dendrímeros de una estructura particular o la estructura correspondiente del polímero mediante monómeros y una molécula de plataforma o combinaciones de estas opciones.

10 Otro objeto de la descripción es una composición y su uso para determinar la enfermedad de Alzheimer en la que el D-péptido

a) contiene una secuencia retro-inversa del péptido beta amiloide o fragmentos parciales de péptido beta amiloide y consiste completamente en D-aminoácidos y/o

15 b) se une al dominio de multimerización del péptido beta amiloide y/o

c) contiene o presenta la secuencia SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, 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:31, SEQ ID NO:32, 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:43, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78 y SEQ ID NO:79 y consisten completamente en D-aminoácidos y/o

30 d) contiene o presenta D-péptidos con la secuencia SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, 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:31, SEQ ID NO:32, 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:43, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78 y SEQ ID NO:79, donde los D-péptidos contienen parcialmente L-aminoácidos y/o

45 e) contiene o presenta secuencias homólogas a SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, 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:31, SEQ ID NO:32, 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:43, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78 y SEQ ID NO:79.

En una variante, los "D-péptidos" consisten en una variante de una secuencia retro-inversa al péptido beta amiloide o a los fragmentos parciales del péptido beta amiloide y consisten completamente en D-aminoácidos.

60 Un "fragmento parcial" consiste en 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o más aminoácidos homólogos a la secuencia de aminoácidos del péptido beta amiloide.

En otra variante, los D-péptidos se unen al dominio de multimerización del péptido beta amiloide. En otra variante, los D-péptidos presentan la secuencia SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID

- NO:13, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, 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:31, SEQ ID NO:32, 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:43, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78 y SEQ ID NO:79 y consisten completamente en D-aminoácidos. En otra variante, los D-péptidos presentan una de las secuencias mencionadas anteriormente y contienen parcialmente L-aminoácidos. En otra variante, los D-péptidos presentan secuencias homólogas a las mencionadas anteriormente. El término "D-péptido" se refiere a un péptido que está compuesto de aminoácidos en forma D.
- 15 En una variante, los D-péptidos también presentan parcialmente L-aminoácidos. Por "parcialmente" L-aminoácidos se entiende que 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más aminoácidos homólogos a la secuencia de aminoácidos del D-péptido que consistente en D-aminoácidos son sustituidos por el mismo aminoácido en la conformación L.
- En una variante, los "D-péptidos" consisten en una variante de una secuencia retro-inversa al péptido beta amiloide o a los fragmentos parciales del péptido beta amiloide y consisten completamente en D-aminoácidos.
- 20 Un "fragmento parcial" consiste en 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o más aminoácidos homólogos a la secuencia de aminoácidos del péptido beta amiloide.
- 25 En otra variante adicional, los D-péptidos según la invención se unen al dominio de multimerización del péptido beta amiloide. En otra variante que no es según la invención, los D-péptidos presentan las secuencias mencionadas anteriormente SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, 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:31, SEQ ID NO:32, 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:43, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78 y SEQ ID NO:79 y consisten completamente en D-aminoácidos.
- 40 En otra realización, el péptido comprende el motivo de secuencia DB 4: RPRTLRLTHQNR (SEQ ID NO: 1) o fragmentos activos del mismo.
- En otra realización, el péptido comprende el motivo de la secuencia SHYRHISP (SEQ ID NO:3) o fragmentos activos de la misma.
- 45 En otra realización, el péptido comprende el motivo de la secuencia GISWQQSHHLVA (SEQ ID NO:4) o fragmentos activos de la misma.
- En otra realización, el péptido comprende el motivo de la secuencia PRTLHPTH (SEQ ID NO:5) o fragmentos activos de la misma.
- 50 En otra variante que no es según la invención, el péptido se selecciona del grupo que consiste en péptidos con las secuencias de D-aminoácidos: a) QSHYRHISPAQV (SEQ ID NO:6); b) QSHYRHISPDQV (SEQ ID NO:7); c) QSHYRHISPAR (SEQ ID NO:8); d) KSHYRHISPAKV (SEQ ID NO:9); e) RPRTLRLHTRNR (SEQ ID NO:10); i) RPRTLRLHTRTE (SEQ ID NO:11); y g) KPRTRLHTRNR (SEQ ID NO:12); Además, se da preferencia a secuencias que difieren de las secuencias a) a g) en hasta tres aminoácidos; así como secuencias que comprenden las secuencias a) a g) y secuencias que difieren de las secuencias a) a g) en hasta tres aminoácidos.
- 55 En otra variante, el péptido se selecciona del grupo de péptidos que consiste en péptidos con las secuencias de D-aminoácidos: D3D3: rprtrlhthmrprtrlhthnr (SEQ ID NO:13), aD3nwnD3: rprtrlhthmrnwnrprtrlhthnr (SEQ ID NO:14), doble-D3-Nterminales libres: (rprtrlhthmr)2-PEG3 (SEQ ID NO:15), doble-D3-Cterminales libres: PEG5-(rprtrlhthmr)2 (SEQ ID NO:16), o doble-D3-Nterminales libres: (rprtrlhthmr)2- (SEQ ID NO:63), doble-D3-Cterminales libres: (rprtrlhthmr)2 (SEQ ID NO:64), DB 3: rprtrlhthmr (SEQ ID NO: 65), RD 2: pththnrrrrr (SEQ ID NO: 66), RD 1: pnhhrrrrrrtl (SEQ ID NO: 67), RD 3: rprtrlhthmr (SEQ ID NO: 68), D3-delta-hth: rprtrlnr (SEQ ID NO:69), NT-D3: rprtrl (SEQ ID NO: 70), DB 1: rprtrlhthmr (SEQ ID NO: 71), DB 2: rprtrlhthmr (SEQ ID NO: 72), DB 5: rprtrlhthmr (SEQ ID NO: 74), D3-delta-hth D3-delta-hth: rprtrlnrrprtrlnr (SEQ ID NO:75), RD 2- RD 2: pththnrrrrrpththnrrrrr (SEQ ID NO:
- 60
- 65

76), DO 3: sgwhynwqywwk (SEQ ID NO:77), rprtrsgwhynwqywwkrnr (SEQ ID NO:78) y ptlsgwhynwqywwkrnr (SEQ ID NO:79). También se prefieren secuencias que difieren de las secuencias mencionadas anteriormente en hasta tres aminoácidos; así como secuencias que comprenden cada combinación individual o cualquier combinación de las secuencias mencionadas anteriormente.

5 En otra variante, los D-péptidos presentan fragmentos de las secuencias mencionadas o presentan secuencias homólogas a las secuencias mencionadas anteriormente.

10 Además, también se dieron a conocer preparaciones definidas, homogéneas y estables de estándares para la cuantificación de agregados u oligómeros patógenos a partir de proteínas propias del cuerpo, que se pueden usar en particular para el tratamiento de sangre, productos sanguíneos y/u órganos. Los estándares se pueden usar en este caso para la cuantificación de oligómeros o agregados patógenos que caracterizan una enfermedad de agregación de proteínas o una degeneración amiloide o enfermedad por plegamiento incorrecto de proteínas. En este caso, se forma un polímero a partir de secuencias de polipéptidos que son idénticas en secuencia en la zona parcial correspondiente con las proteínas propias del cuerpo o tienen una homología de al menos un 50 % sobre la zona parcial correspondiente con las proteínas propias del cuerpo que caracterizan una enfermedad de agregación de proteínas o una degeneración amiloide o una enfermedad por plegamiento incorrecto de proteínas, donde los polímeros no se agregan.

20 Un estándar en el sentido de la presente descripción es un valor de referencia fijo, generalmente válido y aceptado, que sirve para comparar y determinar propiedades y/o cantidad, en particular para determinar el tamaño y la cantidad de agregados patógenos de las proteínas endógenas. El estándar en el sentido de la presente invención puede usarse para calibrar dispositivos y/o mediciones.

25 Para los fines de la presente invención, el término "enfermedad por agregación de proteínas" también se puede usar para agrupar la degeneración amiloide y la enfermedad por plegamiento incorrectas de proteínas. Ejemplos de dichas enfermedades y las proteínas endógenas asociadas son: Proteína A-beta y tau para EA, alfa-sinucleína para Parkinson, amilina para diabetes o proteína priónica para enfermedades priónicas, como la enfermedad humana de Creutzfeldt-Jakob (CJD), la enfermedad ovina scrapie y la encefalopatía espongiforme bovina (EEB).

30 El término "subsección correspondiente" de las proteínas endógenas significa que la secuencia peptídica que, según las definiciones dadas en la invención, presenta una secuencia peptídica de un monómero a partir del cual se construyen los estándares según la invención, que es idéntica u homóloga con el porcentaje dado.

35 Es sustancial para los estándares que éstos no se agreguen, preferentemente utilizando secuencias monoméricas que no se agregan porque la "subsección correspondiente" de proteínas endógenas no es responsable de la agregación, o que no se agregan al bloquear los grupos responsables de la agregación.

Los agregados para los propósitos de esta revelación son

40 - partículas que consisten en varios componentes preferentemente idénticos, que no están covalentemente unidos entre sí y/o

45 - ensamblajes no covalentes de varios monómeros.

En una realización, los estándares tienen un número bien definido de epítomos que se enlazan covalentemente (directamente o a través de aminoácidos, espaciadores y/o grupos funcionales) para unir las sondas correspondientes.

50 Las sondas en el sentido de la descripción se seleccionan del grupo que consiste en: anticuerpos, nanocuerpos y aficuerpos.

El número de epítomos se determina utilizando una secuencia de polipéptidos idéntica en secuencia a aquella subsección de proteínas endógenas que forma un epítomo o tiene una homología de al menos un 50 % con esta subsección, y que tiene la actividad biológica del epítomo.

En otra realización, los epítomos son epítomos del péptido A-beta seleccionados de las subsecciones A-beta 1-11, A-beta 3-11 o pyroGluA-beta 3-11, por ejemplo, el epítomo humano N-terminal (con la secuencia siguiente: DAEFRHDSGYE (1-11) (SEQ ID NO:17)).

60 La molécula estándar es un polímero de las secuencias de polipéptidos definidas anteriormente. Un oligómero en el sentido de la invención es un polímero formado de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 monómeros (el monómero es la secuencia de polipéptido mencionada anteriormente), o múltiplos del mismo, preferentemente 2-16, 4-16, 8-16, particularmente preferentemente 8 o 16, o múltiplos del mismo.

65 En una alternativa, los estándares son solubles en agua.

En una alternativa, los estándares se establecen a partir de secuencias de polipéptidos idénticas.

En otra alternativa, los estándares se establecen a partir de diferentes secuencias de polipéptidos.

5 En una alternativa, las secuencias de polipéptidos definidas anteriormente se alinean consecutivamente en una conformación lineal.

10 En una alternativa, dichas secuencias de polipéptidos como se definieron anteriormente se unen para formar un oligómero ramificado según la invención.

En una alternativa, dichas secuencias de polipéptidos definidas anteriormente se alinean consecutivamente para formar un oligómero reticulado.

15 Los oligómeros ramificados o reticulados pueden producirse mediante la unión de componentes individuales mediante lisina o de química clic.

20 La descripción se refiere en una alternativa a una molécula estándar que contiene o está compuesta de copias de la parte amino-terminal del péptido A-beta seleccionado de las subsecciones A-beta 1-11, A-beta 3-11, o pyroGluA-beta 3-11, por ejemplo, el epítipo N-terminal humano (con la secuencia siguiente: DAEFRHDSGYE (1-11) (SEQ ID NO:17)).

25 La multiplicación de los epítipos por grupos funcionales se puede realizar antes o después de la síntesis de los componentes individuales. La característica de los estándares es la unión covalente de las secuencias de polipéptidos.

30 Las secuencias de polipéptidos a usar pueden ser idénticas a la secuencia del péptido A-beta completo o mostrar una homología del 50, 55, 60, 65, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 % con la secuencia del péptido A-beta completo.

35 Como alternativa, se usan secuencias de polipéptidos idénticas a una subregión del péptido A-beta de longitud completa o que muestran una homología del 50, 60, 65, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 % con una subregión del péptido A-beta de longitud completa para construir las moléculas estándar.

Esencial para las secuencias utilizadas es su capacidad de no agregarse (o solo de forma controlada según las condiciones) y/o su actividad como epítipo.

40 En otra realización, los estándares están compuestas como dendrímeros. Los dendrímeros se construyen a partir de las secuencias de polipéptidos a usar descritas anteriormente y pueden contener una molécula de andamiaje central.

45 En una variante, los dendrímeros contienen secuencias de polipéptidos que tienen una secuencia idéntica a la de una subregión del péptido A-beta o muestran al menos un 50 % de homología con la subregión correspondiente.

El término "al menos un 50 % de homología" significa también una homología superior seleccionada del grupo que consiste en un 50, 55, 60, 65, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 %.

50 En una realización, los estándares, ventajosamente con una mayor solubilidad en solución acuosa que los agregados patógenos u oligómeros de proteínas endógenas, están formadas a partir de secuencias de polipéptidos que son idénticas a la región N-terminal del péptido A-beta o tienen al menos un 50 % de homología con la misma. Según la descripción, se entiende por región N-terminal de un polipéptido A-beta la secuencia de aminoácidos A-Beta 1-8, A-Beta 1-11, A-Beta 1-16, A-Beta 3-11 o pyroGluA-Beta 3-11.

55 Una molécula estándar que se puede usar puede contener epítipos para al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más sondas diferentes.

60 Los epítipos característicos de las diferentes sondas pueden incorporarse a los estándares al utilizar secuencias de polipéptidos que sean idénticas a las diferentes regiones del péptido A-beta, o que tengan al menos un 50 % de homología con las mismas, pero que tengan la actividad del epítipo correspondiente.

65 En una realización de ello, se usan secuencias de polipéptido que son idénticas o tienen un 50 % de homología con la región N-terminal del polipéptido A-beta, y secuencias de polipéptido que son idénticas o tienen al menos un 50 % de homología con la región C-terminal del polipéptido A-beta.

En una realización, las moléculas estándar se encuentran los denominados espaciadores.

Por espaciador se entiende una molécula que está incorporada a la molécula estándar a través de enlaces covalentes y tiene determinadas propiedades físicas y/o químicas que cambian las propiedades de la molécula estándar. En una realización de los estándares, se usan espaciadores hidrofílicos o hidrofóbicos, preferentemente espaciadores hidrofílicos. Los espaciadores hidrofílicos se seleccionan del grupo de moléculas formadas a partir de polietilenglicol, azúcar, glicerol, polililisina o beta-alanina.

Los estándares que se pueden usar contienen en una alternativa grupos funcionales (adicionales). Los grupos funcionales son moléculas que se unen covalentemente a las moléculas estándar. En una variante, los grupos funcionales contienen grupos de biotina. Esto permite una fuerte unión covalente a la estreptavidina. Las moléculas estándar que contienen grupos de biotina pueden, por lo tanto, unirse a las moléculas que contienen grupos de estreptavidina. Si las moléculas estándar que se pueden usar contienen biotina y/o grupos de estreptavidina, se pueden ensamblar estándares más grandes o varias, posiblemente diferentes moléculas estándar se pueden unir a un andamiaje.

En otra alternativa, las moléculas estándar contienen colorantes para la determinación espectrofotométrica y/o aminoácidos aromáticos. Los aminoácidos aromáticos son, por ejemplo, triptófano, tirosina, fenilalanina o histidina, o se seleccionan de este grupo. La incorporación de triptófano permite una determinación espectrofotométrica de la concentración de los estándares en la solución.

Otro objeto es el uso de polipéptidos que contienen dendrímeros que son idénticos en secuencia a las proteínas endógenas en la subregión correspondiente o presentan una homología de al menos un 50 % en la subsección correspondiente con las proteínas endógenas que caracterizan una enfermedad por agregación de proteínas.

Los dendrímeros pueden contener cualquiera de las características de los estándares descritos anteriormente o cualquier combinación de los mismos.

Una alternativa se trata de dendrímeros que contienen un número bien definido de epítopos para la unión covalente de las sondas,

un dendrímero que contiene epítopos del péptido A-beta.

Para examinar sangre, productos sanguíneos y/u órganos en busca de oligómeros beta amiloides se puede usar un estándar para la cuantificación de agregados u oligómeros patógenos de las proteínas endógenas, que caracterizan una enfermedad por agregación de proteínas o una degeneración amiloidea o una enfermedad por plegamiento incorrecto de proteínas, caracterizada porque un polímero se construye a partir de secuencias de polipéptidos que son idénticos en secuencia en la subsección correspondiente con las proteínas endógenas o presentan una homología de al menos un 50 % sobre la subsección correspondiente con aquellas proteínas endógenas que caracterizan una enfermedad por agregación de proteínas o una degeneración amiloidea o una enfermedad por plegamiento de proteínas, donde los polímeros no se agregan.

El estándar puede tener un número definido de epítopos con precisión para la unión de las sondas, que están unidas covalentemente entre sí.

El estándar también puede contener epítopos del péptido A-beta y/o las secuencias según la invención.

El siguiente procedimiento para la cuantificación selectiva de los agregados A-beta también puede usarse para analizar la sangre, los productos sanguíneos y/o los órganos en busca de oligómeros beta amiloides:

Procedimiento que comprende la inmovilización de moléculas de captura de A-beta en un sustrato, la aplicación de la muestra a analizar al sustrato, la adición de sondas etiquetadas para su detección que etiquetan los agregados A-beta mediante una unión específica a los mismos y la detección de los agregados etiquetados.

Este procedimiento para la cuantificación y/o caracterización selectiva de los agregados A-beta comprende las siguientes etapas:

a) aplicación de la muestra a analizar al sustrato,

b) adición de sondas identificadas para la detección, que se unen específicamente a los agregados A-beta para marcarlos; y

c) detección de los agregados marcados, donde

La etapa b) puede realizarse antes de la etapa a).

También se proporcionan estándares que permiten una determinación exacta y cuantitativa de los agregados patógenos u oligómeros a partir de proteínas endógenas. Los estándares deben ser utilizables como estándares internos o externos.

- 5 Además, para la cuantificación de agregados patógenos u oligómeros a partir de proteínas endógenas se pueden usar preparaciones homogéneas y estables de estándares definidos con precisión.

10 Los estándares para la cuantificación de oligómeros o agregados patógenos que caracterizan una enfermedad por agregación de proteínas o una degeneración amiloidea o una enfermedad por plegamiento incorrecto de proteínas están caracterizados porque un polímero se construye a partir de secuencias de polipéptidos que son idénticos en secuencia en la subsección correspondiente con las proteínas endógenas o presentan una homología de al menos un 50 % sobre la subsección correspondiente con aquellas proteínas endógenas que caracterizan una enfermedad por agregación de proteínas o una degeneración amiloidea o una enfermedad por plegamiento de proteínas, donde los polímeros no se agregan.

15 El estándar puede estar caracterizado porque tiene un número definido de epítomos, que están unidos covalentemente entre sí, para la unión de las sondas.

20 El estándar también puede estar caracterizado porque contiene epítomos del péptido A-beta y/o las secuencias según la invención.

Los estándares se usan como moléculas de captura. Como alternativa, los estándares se usan para la eliminación y/o detoxificación de oligómeros beta amiloides en sangre, productos sanguíneos y/u órganos.

25 Además, se da a conocer un kit que comprende estándares y/o secuencias. Los compuestos y/o componentes del kit pueden estar envasados en recipientes con/que contengan, según corresponda, tampones y/o solución. De forma alternativa, algunos componentes pueden estar embalados en el mismo contenedor. De forma alternativa o adicional, uno o más de los componentes podrían ser absorbidos en un soporte sólido como una placa de vidrio, un chip o una membrana de nylon o en el pocillo de una placa de microtitulación. El kit también puede incluir instrucciones para el uso del kit para cualquiera de las realizaciones.

El objeto de la presente invención es también un kit para la cuantificación selectiva de agregados A-beta según el procedimiento descrito anteriormente. Dicho kit puede contener uno o más de los siguientes componentes:

35 - sustrato de vidrio recubierto con una sustancia hidrofóbica;

- estándar;

40 - molécula de captura;

- sonda;

- sustrato con molécula de captura;

45 - soluciones;

- tampón.

50 Los compuestos y/o componentes del kit de la presente invención pueden estar envasados en contenedores, posiblemente con/en tampón y/o solución. De forma alternativa, algunos componentes pueden estar embalados en el mismo contenedor. De forma alternativa o adicional, uno o más de los componentes podrían ser absorbidos en un soporte sólido como una placa de vidrio, un chip o una membrana de nylon o en el pocillo de una placa de microtitulación. El kit también puede incluir instrucciones para el uso del kit para cualquiera de las realizaciones.

55 En otra variante del kit, las moléculas de captura descritas anteriormente están inmovilizadas en el sustrato. Además, el KIT puede contener soluciones y/o tampones. Para proteger la superficie de dextrano y/o de las moléculas de captura inmovilizadas en ella, se pueden recubrir estas con una solución o un tampón.

60 El kit también puede contener al menos un estándar o al menos un dendrímero para la cuantificación de los agregados u oligómeros patógenos de las proteínas endógenas que contienen una enfermedad por agregación de proteínas.

65 Polímeros, D-péptidos, anticuerpos y/o compuestos que según la invención se pueden usar en un procedimiento para el tratamiento (in vitro) de sangre, productos sanguíneos y/u órganos para la eliminación y/o detoxificación de oligómeros beta-amiloides se representan a continuación:

D3D3: rprtrlhthrnrrprtrlhthnr (SEQ ID NO:13)

Otros polímeros, D-péptidos, anticuerpos, y/o componentes que se pueden usar en un procedimiento que no es según la invención para el tratamiento (in vitro) de sangre, productos sanguíneos y/u órganos para la eliminación y/o detoxificación de oligómeros beta-amiloides se representan a continuación:

- DB 4: rprtrlrthqnr (SEQ ID NO:1)
- D3nwnD3: rprtrlhthrnwnrprtrlhthnr (SEQ ID NO:14)
- doble-D3-Nterminales libres: (rprtrlhthnr)₂-PEG3 (SEQ ID NO:15)
- 10 doble-D3-Cterminales libres: PEG5-(rprtrlhthnr)₂ (SEQ ID NO:16)
- kqhhveygsdhrfead (SEQ ID NO:2)
- shyrhisp (SEQ ID NO:3)
- giswqqshhlva (SEQ ID NO:4)
- prtrlhth (SEQ ID NO:5)
- 15 qshyrhispaqv (SEQ ID NO:6)
- qshyrhispdqv (SEQ ID NO:7)
- qshyrhispar (SEQ ID NO:8)
- kshyrhispakv (SEQ ID NO:9)
- rprtrlhthnr (SEQ ID NO:10)
- 20 rprtrlhthrte (SEQ ID NO:11)
- kprrtrlhthnr (SEQ ID NO:12)
- daefrhdsgye (SEQ ID NO:17)
- hhghspnvsqvr (SEQ ID NO:18)
- gsfstqvgsllhr (SEQ ID NO:19)
- 25 htgtqsyvpri (SEQ ID NO:20)
- tlayaraymvap (SEQ ID NO:21)
- tlayaraymvap (SEQ ID NO:22)
- atpqndlktfph (SEQ ID NO:23)
- tqpetdlrvqf (SEQ ID NO:24)
- 30 citwppptglty (SEQ ID NO:25)
- tfletgpiyadg (SEQ ID NO:26)
- lvppthrhwpvt (SEQ ID NO:27)
- appgnwmylmp (SEQ ID NO:28)
- dnysnyvpgtkp (SEQ ID NO:29)
- 35 svsvgmkp sprp (SEQ ID NO:30)
- slpnpsfvssfg (SEQ ID NO:31)
- yvhnpylpnp (SEQ ID NO:32)
- crrlhtyigpvt (SEQ ID NO:33)
- gatmkkmddhtv (SEQ ID NO:34)
- 40 lgktqklstdahs (SEQ ID NO:35)
- ddqarpymaygp (SEQ ID NO:36)
- gdtwvnmvsmvh (SEQ ID NO:37)
- gytwvnmvsmvh (SEQ ID NO:38)
- wtntvarlatpy (SEQ ID NO:39)
- 45 qtqalyhsrqvh (SEQ ID NO:40)
- nsqtqtlhlfp (SEQ ID NO:41)
- hntsanilhssh (SEQ ID NO:42)
- shinptsfwpap (SEQ ID NO:43)
- tfsnplymwprp (SEQ ID NO:44)
- 50 gspfnppqtpv (SEQ ID NO:45)
- fsdhksptppr (SEQ ID NO:46)
- stsvyppppsaw (SEQ ID NO:47)
- yglptqansmql (SEQ ID NO:48)
- hnrtndtyirpt (SEQ ID NO:49)
- 55 lqqplgnnrps (SEQ ID NO:50)
- kpedsaaypqr (SEQ ID NO:51)
- rpedsvitktqnt (SEQ ID NO:52)
- raadsgctptkh (SEQ ID NO:53)
- rprtrlhthrnt (SEQ ID NO:54)
- 60 rprtrlhthtnv (SEQ ID NO:55)
- rprtrlhthtnr (SEQ ID NO:56)
- rprtrlhthrkq (SEQ ID NO:57)
- rprtrlhthlnr (SEQ ID NO:58)
- rrrsplhthnr (SEQ ID NO:59)
- 65 lrsprqrrpri (SEQ ID NO:60)
- rkrqlrmttprp (SEQ ID NO:61)

- shyrhispaqk (SEQ ID NO:62)
 doble-D3-Nterminales libres: (rprrlththnrr)2- (SEQ ID NO:63)
 doble-D3-Cterminales libres: (rprrlththnrr)2 (SEQ ID NO:64)
 DB 3: rpitrllthqnrr (SEQ ID NO: 65),
 5 RD 2: ptilhthnrrrrr (SEQ ID NO: 66)
 RD 1: pnhhrrrrrrtl (SEQ ID NO: 67)
 RD 3: rrptlththnrr (SEQ ID NO: 68)
 D3-delta-hth: rprrlrrr (SEQ ID NO:69)
 NT-D3: rprrl (SEQ ID NO: 70)
 10 DB 1: rpitrllthnrr (SEQ ID NO: 71),
 DB 2:rpittlqthqnrr (SEQ ID NO: 72),
 D3: rprrlththnrr (SEQ ID NO: 73)
 DB 5: rpitrllqtheqr (SEQ ID NO. 74)
 D3-delta-hth D3-delta-hth: rprrlrrrrprrlrrr (SEQ ID NO:75)
 15 RD 2- RD 2: ptilhthnrrrrrrprrlththnrrrrr (SEQ ID NO: 76)
 DO 3: sgwhynwqywwk (SEQ ID NO:77)
 rprrsgwhynwqywwkrrr (SEQ ID NO:78)
 ptilsgwhynwqywwkrrrrr (SEQ ID NO:79)
- 20 Anticuerpos que se pueden usar en un procedimiento para el tratamiento (in vitro) de sangre, productos sanguíneos y/u órganos para la extracción y/o detoxificación de oligómero beta-amiloide se definen a continuación:
- Anticuerpos que
- 25 a) se unen a una secuencia retro-inversa del péptido beta amiloide o fragmentos parciales de péptido beta amiloide; y/o
- b) se unen al dominio de multimerización del péptido beta amiloide y también al péptido beta amiloide; y/o
- 30 c) se unen a una de las secuencias mencionadas anteriormente seleccionadas del grupo:
- SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, 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:31, SEQ ID NO:32, 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:43, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78 y SEQ ID NO:79 o secuencias homólogas de las mismas.
- 45 Compuestos híbridos que se pueden usar en un procedimiento para el tratamiento (in vitro) de sangre, productos sanguíneos y/u órganos para la extracción y/o detoxificación de oligómeros beta-amiloides se definen a continuación:
- 50 Compuesto híbrido de la fórmula A-B donde A es un aminopirazol o un derivado del mismo y B es un péptido y A y B están covalentemente enlazados entre sí directamente o mediante un enlazador.
- Compuesto híbrido, caracterizado porque B es un D-péptido, caracterizado porque el D-péptido es seleccionado de las secuencias mencionadas anteriormente.
- 55 Compuesto híbrido de fórmula A-B, caracterizado porque
- A se selecciona del grupo de compuestos que consisten en:
- 60 ácido 3-aminopirazol-5-carboxílico, derivados del mismo con grupo CH heterocíclico sustituido por -CR- o -N-, -O-, -S-, dímero y trímero o tetramero de ácido 3-aminopirazol-5-carboxílico;
- B se selecciona del grupo de compuestos que consiste en:
- 65 Péptido D3, SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, 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:31, SEQ ID NO:32, 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:43, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78 y SEQ ID NO:79 o secuencias homólogas de las mismas.

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:31, SEQ ID NO:32, 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:43, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78 y SEQ ID NO:79;

el enlazador se selecciona del grupo de enlaces que consiste en:

sin enlazador, GABA, TEG, TEG-dímero, PEG, alfa-aminoácidos, ácido alfa-amino-omega-carboxílico.

Mediante el procedimiento según la invención, se eliminan y/o detoxifican partículas patógenas, oligómeros beta amiloides, es decir, se convierten a una forma inofensiva o se destruyen. Esto previene la infección adicional por la retención y multiplicación de partículas patógenas (amiloidógenas). Los efectos sinérgicos se producen, inducidos por los compuestos a utilizar según la invención. En particular, los co-agregados de péptidos de beta amiloide (oligómeros) y los compuestos a utilizar según la invención como forma inofensiva para una prevención o reducción posterior de una formación adicional o nueva de los agregados de beta-A. El procedimiento según la invención es, por lo tanto, más seguro que los procedimientos conocidos del estado de la técnica, ya que no tiene que producirse una eliminación absolutamente completa de las partículas patógenas, tóxicas y/o infecciosas. La detoxificación tiene lugar mediante la conversión en formas inofensivas, que pueden prevenir o reducir una infección posterior, es decir, la formación de agregados A-beta.

Ejemplos:

1. Ensayo de siembra ThT: Aspectos básicos

Los péptidos amiloidogénicos tienen la capacidad de formar fibrillas amiloides. Esto puede ocurrir de forma espontáneamente con una cierta probabilidad. Si no hay "brotes" amiloides presentes, puede pasar algún tiempo antes de que se formen las primeras fibrillas amiloides, cuya formación y proliferación puede rastrearse de forma cuantitativa mediante la fluorescencia de la tioflavina T (ThT). La ThT interactúa con las fibrillas A-beta y el complejo de fibrillas-colorante muestra una fluorescencia aumentada (λ_{em} : 450 nm, λ_{ex} : 490 nm). El tiempo hasta que la señal ThT comienza a aumentar se llama "fase de retraso". Esta "fase de retraso" puede evitarse o acortarse enormemente si se agregan "brotes" amiloides, también llamadas "semillas", a la preparación de la agregación. Un ejemplo conocido es la adición de material cerebral que contiene priones a una solución de proteína priónica recombinante monomérica, que luego forma fibrillas ThT-positivas con una "fase de retraso" significativamente acortada. Otro ejemplo es agregar una pequeña cantidad de fibrillas amiloides Abeta a una solución de péptido A-beta no agregado (Abeta). También en este caso, la "fase de retraso" para la formación de fibrillas Abeta ThT-positivas se acorta significativamente. Como resultado, esta prueba (llamada "ensayo de siembra ThT") permite que cualquier sustancia o mezcla de sustancias sea analizada con respecto a su contenido de amiloides con capacidad de germinación. Si la mezcla de sustancias agregadas a la preparación de agregación contiene amiloides con capacidad de "germinación", esto puede provocar la ausencia o el acortamiento de la "fase de retraso". Esta característica in vitro se considera a menudo análoga a la infectividad o transmisibilidad in vivo de tipo prión. En la primera prueba de control, se examinó si los agregados de Abeta formados previamente como núcleos de agregación en realidad acortan la "fase de retraso" de la agregación de Abeta recién disuelto. Con este fin, se monitorizó la fluorescencia ThT de Abeta recién disuelto en ausencia y presencia de agregados de Abeta formados previamente. Posteriormente, se prepararon agregados Abeta, que se formaron a partir de una mezcla de Abeta (1-42) y una sustancia inhibidora (en este ejemplo, uno de los D-péptidos D3, DB1, DB2, DB3, DB4, DB5) que deberá interferir en la formación de las fibrillas amiloides. Los coagregados inhibidores de Abeta formados de esta manera, tal como los agregados Abeta amiloides, se añadieron a un ensayo de siembra ThT para determinar el potencial amiloide restante de estos coagregados.

2. Ensayo de siembra ThT: Detalles experimentales

Se preincubó el péptido A-beta 20 μ M (1-42) junto con una de las sustancias inhibidoras (20 μ M) durante 7 días a 37 °C en NaPi 10 mM pH 7,4. A continuación, se centrifugó muestra (20 min, 16.100 x g), el pellet agregado se lavó 3 veces y se resuspendió en NaPi 10 mM pH 7,4. Análogamente, las fibrillas A β se produjeron sin un inhibidor como control positivo. Directamente antes del ensayo de siembra de ThT real, se mezcló A β fresco (20 μ M en NaPi 10 mM pH 7,4) (80:20 partes en volumen) con los brotes de agregación resuspendidos, que habían surgido en presencia o ausencia de las sustancias inhibidoras, y se añadió ThT 10 μ M. La solución fresca de A β sirvió como referencia, que se mezcló con solución tampón sin brotes de agregación (80:20 partes en volumen) y contenía ThT 10 μ M. Se pipetearon 50 μ l de la solución de reacción respectiva en un pocillo de una placa de microtitulación negra de 384 pocillos. La fluorescencia ThT se midió cada 30 minutos durante 20 horas a una longitud de onda de excitación de 440 nm y una longitud de onda de emisión de 490 nm. Para la evaluación, la intensidad de fluorescencia se corrigió

restando el 20 % de los brotes de agregación añadidos y se calculó el valor medio. Se realizó una determinación óctuple.

3. Realización:

La Fig. 1 muestra el curso temporal de la fluorescencia ThT en ausencia (línea continua) y presencia de agregados de Abeta formados previamente, que se formaron sin la adición de sustancias inhibitoras.

Se puede ver claramente que estos agregados aceleran significativamente la agregación de Abeta fresco (Δt de aproximadamente 4 h), lo que muestra claramente un efecto de siembra.

La Fig. 2 muestra el curso temporal de la fluorescencia ThT en ausencia (línea continua) y presencia de agregados de Abeta formados previamente, que se formaron antes del comienzo del experimento con la adición de la sustancia inhibidora D3.

Se puede ver claramente que estos agregados no pueden acelerar la agregación de Abeta fresco y, por lo tanto, claramente no muestran ningún efecto de siembra.

La Fig. 3 muestra el curso temporal de la fluorescencia ThT en ausencia (línea continua) y presencia de agregados de Abeta formados previamente, que se formaron antes del comienzo del experimento con la adición de la sustancia inhibidora DB1.

Se puede ver claramente que estos agregados no pueden acelerar la agregación de Abeta fresco y, por lo tanto, claramente no muestran ningún efecto de siembra.

La Fig. 4 muestra el curso temporal de la fluorescencia ThT en ausencia (línea continua) y presencia de agregados de Abeta formados previamente, que se formaron antes del comienzo del experimento con la adición de la sustancia inhibidora DB2.

Se puede ver claramente que estos agregados no pueden acelerar la agregación de Abeta fresco y, por lo tanto, claramente no muestran ningún efecto de siembra.

La Fig. 5 muestra el curso temporal de la fluorescencia ThT en ausencia (línea continua) y presencia de agregados de Abeta formados previamente, que se formaron antes del comienzo del experimento con la adición de la sustancia inhibidora DB3.

Se puede ver claramente que estos agregados no pueden acelerar la agregación de Abeta fresco y, por lo tanto, claramente no muestran ningún efecto de siembra.

La Fig. 6 muestra el curso temporal de la fluorescencia ThT en ausencia (línea continua) y presencia de agregados de Abeta formados previamente, que se formaron antes del comienzo del experimento con la adición de la sustancia inhibidora DB4.

Se puede ver claramente que estos agregados no pueden acelerar la agregación de Abeta fresco y, por lo tanto, claramente no muestran ningún efecto de siembra. Además, los coagregados DB4-Abeta incluso parecen reducir la formación de agregados Abeta ThT-positivos en la fase posterior.

La Fig. 7 muestra el curso temporal de la fluorescencia ThT en ausencia (línea continua) y presencia de agregados de Abeta formados previamente, que se formaron antes del comienzo del experimento con la adición de la sustancia inhibidora DB5.

Se puede ver que estos agregados no pueden acelerar la agregación de Abeta fresco y, por lo tanto, claramente no muestran ningún efecto de siembra.

4. Resumen de los resultados:

Todos los D-péptidos probados formaron agregados con Abeta, que ya no pudieron acortar la "fase de retardo" de la agregación de Abeta recién disuelto. Por lo tanto, estos coagregados no son amiloidógenos.

Lista de secuencias

<110> Forschungszentrum Juelich GmbH

<120> Procedimiento para el tratamiento de sangre, productos sanguíneos y órganos

<130> FZJ1205PCT

<160> 79

<170> patente versión 3.5

5 <210> 1
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> D-Péptido

<400> 1

15 Arg Pro Arg Thr Arg Leu Arg Thr His Gln Asn Arg
1 5 10

<210> 2
<211> 16
20 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> D-Péptido

25 <400> 2

Lys Gln His His Val Glu Tyr Gly Ser Asp His Arg Phe Glu Ala Asp
1 5 10 15

30 <210> 3
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220><223> D-Péptido

<400> 3

Ser His Tyr Arg His Ile Ser Pro
1 5

40 <210> 4
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220><223> D-Péptido

<400> 4

Gly Ile Ser Trp Gln Gln Ser His His Leu Val Ala
1 5 10

50 <210> 5
<211> 8
<212> PRT
55 <213> Secuencia artificial

<220><223> D-Péptido

<400> 5

60

ES 2 773 125 T3

	Pro Arg Thr Arg Leu His Thr His
	1 5
5	<210> 6 <211> 12 <212> PRT <213> Secuencia artificial
	<220><223> D-Péptido
10	<400> 6
	Gln Ser His Tyr Arg His Ile Ser Pro Ala Gln Val
	1 5 10
15	<210> 7 <211> 12 <212> PRT <213> Secuencia artificial
	<220><223> D-Péptido
20	<400> 7
	Gln Ser His Tyr Arg His Ile Ser Pro Asp Gln Val
	1 5 10
25	<210> 8 <211> 11 <212> PRT <213> Secuencia artificial
30	<220><223> D-Péptido
	<400> 8
	Gln Ser His Tyr Arg His Ile Ser Pro Ala Arg
	1 5 10
35	<210> 9 <211> 12 <212> PRT <213> Secuencia artificial
40	<220><223> D-Péptido
	<400> 9
	Lys Ser His Tyr Arg His Ile Ser Pro Ala Lys Val
	1 5 10
45	<210> 10 <211> 12 <212> PRT <213> Secuencia artificial
50	<220><223> D-Péptido
	<400> 10
55	Arg Pro Arg Thr Arg Leu His Thr His Arg Asn Arg
	1 5 10
	<210> 11 <211> 12

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220><223> D-Péptido
 5 <400> 11
 Arg Pro Arg Thr Arg Leu His Thr His Arg Thr Glu
 1 5 10
 10 <210> 12
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15 <220><223> D-Péptido
 <400> 12
 Lys Pro Arg Thr Arg Leu His Thr His Arg Asn Arg
 1 5 10
 20 <210> 13
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 25 <220><223> D-Péptido
 <400> 13
 Arg Pro Arg Thr Arg Leu His Thr His Arg Asn Arg Arg Pro Arg Thr
 1 5 10 15
 30 Arg Leu His Thr His Arg Asn Arg
 20
 <210> 14
 <211> 27
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia artificial
 <220><223> D-Péptido
 <400> 14
 40 Arg Pro Arg Thr Arg Leu His Thr His Arg Asn Arg Asn Trp Asn Arg
 1 5 10 15
 Pro Arg Thr Arg Leu His Thr His Arg Asn Arg
 20 25
 <210> 15
 <211> 24
 45 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220><223> D-Péptido
 50 <220>
 <223> doble-D3-Nterminales libres (rprtrlhthrn)r2-PEG3
 <400> 15

ES 2 773 125 T3

Arg Pro Arg Thr Arg Leu His Thr His Arg Asn Arg Arg Pro Arg Thr
1 5 10 15

Arg Leu His Thr His Arg Asn Arg
20

<210> 16

<211> 24

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220><223> D-Péptido

10 <220>

<223> doble-D3-Cterminales libres: PEG5-(rprrlhlthnr)2

<400> 16

Arg Pro Arg Thr Arg Leu His Thr His Arg Asn Arg Arg Pro Arg Thr
1 5 10 15

Arg Leu His Thr His Arg Asn Arg
20

15

<210> 17

<211> 11

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220><223> D-Péptido

<400> 17

25

Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu
1 5 10

<210> 18

<211> 12

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220><223> D-Péptido

35 <400> 18

His His Gly His Ser Pro Asn Val Ser Gln Val Arg
1 5 10

<210> 19

40 <211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220><223> D-Péptido

45

<400> 19

Gly Ser Phe Ser Thr Gln Val Gly Ser Leu His Arg
1 5 10

50 <210> 20

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220><223> D-Péptido

<400> 20

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

<210> 21

<211> 12

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220><223> D-Péptido

<400> 21

15
Thr Leu Ala Tyr Ala Arg Ala Tyr Met Val Ala Pro
1 5 10

<210> 22

$\langle 211 \rangle$ 12

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220><223> D-Péptido

25 <400> 22

Thr Leu Ala Tyr Ala Arg Ala Tyr Met Val Ala Pro
1 5 10

<210> 23

30 $\langle 211 \rangle$ 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220><223> D-Péptido

35

<400> 23

Ala Thr Pro Gln Asn Asp Leu Lys Thr Phe Pro His
1 5 10

<210> 24

 $\langle 211 \rangle$ 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45 <220><223> D-Péptido

<400> 24

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

50

<210> 25

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

55

<220><223> D-Péptido

<400> 25

cys Ile Thr Trp Pro Pro Thr Gly Leu Thr Tyr
1 5 10

60

[illegible]

<220><223> D-Péptido

<400> 31

5		Ser	Leu	Pro	Asn	Pro	Phe	Ser	Val	Ser	Ser	Phe	Gly
		1				5					10		

<210> 32

<211> 12

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220><223> D-Péptido

<400> 32

15		Tyr	Val	His	Asn	Pro	Tyr	His	Leu	Pro	Asn	Pro	Pro
		1				5					10		

<210> 33

<211> 12

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220><223> D-Péptido

25 <400> 33

	cys	Arg	Arg	Leu	His	Thr	Tyr	Ile	Gly	Pro	Val	Thr
	1				5					10		

<210> 34

30 <211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220><223> D-Péptido

35 <400> 34

	Gly	Ala	Thr	Met	Lys	Lys	Met	Asp	Asp	His	Thr	Val
	1				5					10		

40 <210> 35

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45 <220><223> D-Péptido

<400> 35

	Leu	Gly	Lys	Thr	Gln	Lys	Leu	Ser	Asp	Ala	His	Ser
	1				5					10		

50 <210> 36

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

55 <220><223> D-Péptido

<400> 36

60 Asp Asp Gln Ala Arg Pro Tyr Met Ala Tyr Gly Pro

ES 2 773 125 T3

[illegible]

<220><223> D-Péptido

<400> 42

5 His Asn Thr Ser Ala Asn Ile Leu His Ser Ser His
1 5 10

<210> 43
<211> 12
10 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220><223> D-Péptido

15 <400> 43

Ser His Ile Asn Pro Thr Ser Phe Trp Pro Ala Pro
1 5 10

<210> 44
20 <211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220><223> D-Péptido

25 <400> 44

Thr Phe Ser Asn Pro Leu Tyr Met Trp Pro Arg Pro
1 5 10

30 <210> 45
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220><223> D-Péptido

<400> 45

Gly Pro Ser Pro Phe Asn Pro Gln Pro Thr Pro Val
1 5 10

40 <210> 46
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220><223> D-Péptido

<400> 46

Phe Ser Asp His Lys Ser Pro Thr Pro Pro Pro Arg
1 5 10

50 <210> 47
<211> 12
<212> PRT
55 <213> Secuencia artificial

<220><223> D-Péptido

<400> 47

60

ES 2 773 125 T3

		Ser	Thr	Ser	Val	Tyr	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	Ala	Trp	
		1				5					10			
5		<210> 48												
		<211> 12												
		<212> PRT												
		<213> Secuencia artificial												
		<220><223> D-Péptido												
10		<400> 48												
		Tyr	Gly	Leu	Pro	Thr	Gln	Ala	Asn	Ser	Met	Gln	Leu	
		1				5					10			
15		<210> 49												
		<211> 12												
		<212> PRT												
		<213> Secuencia artificial												
		<220><223> D-Péptido												
20		<400> 49												
		His	Asn	Arg	Thr	Asp	Asn	Thr	Tyr	Ile	Arg	Pro	Thr	
		1				5					10			
25		<210> 50												
		<211> 12												
		<212> PRT												
		<213> Secuencia artificial												
30		<220><223> D-Péptido												
		<400> 50												
35		Leu	Gln	Gln	Pro	Leu	Gly	Asn	Asn	Arg	Pro	Asn	Ser	
		1				5					10			
40		<210> 51												
		<211> 12												
		<212> PRT												
		<213> Secuencia artificial												
		<220><223> D-Péptido												
		<400> 51												
45		Lys	Pro	Glu	Asp	Ser	Ala	Ala	Tyr	Pro	Gln	Asn	Arg	
		1				5					10			
50		<210> 52												
		<211> 13												
		<212> PRT												
		<213> Secuencia artificial												
		<220><223> D-Péptido												
		<400> 52												
55		Arg	Pro	Glu	Asp	Ser	Val	Ile	Thr	Lys	Thr	Gln	Asn	Thr
		1				5					10			
60		<210> 53												
		<211> 12												
		<212> PRT												

<213> Secuencia artificial

<220><223> D-Péptido

5 <400> 53

Arg Ala Ala Asp Ser Gly cys Thr Pro Thr Lys His
1 5 10

<210> 54
10 <211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220><223> D-Péptido

15 <400> 54

Arg Pro Arg Thr Arg Leu His Thr His Arg Asn Thr
1 5 10

20 <210> 55
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25 <220><223> D-Péptido

<400> 55

Arg Pro Arg Thr Arg Leu His Thr His Thr Asn Val
1 5 10

30 <210> 56
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220><223> D-Péptido

<400> 56

Arg Pro Arg Thr Arg Leu His Thr His Thr Asn Arg
1 5 10

40 <210> 57
<211> 12
<212> PRT
45 <213> Secuencia artificial

<220><223> D-Péptido

<400> 57

50 Arg Pro Arg Thr Arg Leu His Thr His Arg Lys Gln
1 5 10

<210> 58
55 <211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220><223> D-Péptido

60 <400> 58

ES 2 773 125 T3

		Arg	Pro	Arg	Thr	Arg	Leu	His	Thr	Leu	Arg	Asn	Arg
		1				5					10		
5	<210>	59											
	<211>	12											
	<212>	PRT											
	<213>	Secuencia artificial											
	<220><223>	D-Péptido											
10	<400>	59											
		Arg	Arg	Arg	Ser	Pro	Leu	His	Thr	His	Arg	Asn	Arg
		1				5					10		
15	<210>	60											
	<211>	12											
	<212>	PRT											
	<213>	Secuencia artificial											
	<220><223>	D-Péptido											
20	<400>	60											
		Leu	Arg	Ser	Pro	Arg	Gln	Arg	Arg	Ile	Pro	Arg	Ile
25		1					5					10	
	<210>	61											
	<211>	12											
	<212>	PRT											
30	<213>	Secuencia artificial											
	<220><223>	D-Péptido											
	<400>	61											
35		Arg	Lys	Arg	Gln	Leu	Arg	Met	Thr	Thr	Pro	Arg	Pro
		1				5					10		
	<210>	62											
	<211>	11											
40	<212>	PRT											
	<213>	Secuencia artificial											
	<220><223>	D-Péptido											
45	<400>	62											
		Ser	His	Tyr	Arg	His	Ile	Ser	Pro	Ala	Gln	Lys	
		1				5					10		
50	<210>	63											
	<211>	24											
	<212>	PRT											
	<213>	Secuencia artificial											
	<220>												
55	<223>	D-Péptido											
	<220>												
	<223>	doble-D3-Nterminales libres (rprrtlhthnrn)2											
60	<400>	63											

Arg Pro Arg Thr Arg Leu His Thr His Arg Asn Arg Arg Pro Arg Thr
1 5 10 15

Arg Leu His Thr His Arg Asn Arg
20

<210> 64

<211> 24

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> D-Péptido

10

<220>

<223> doble-D3-Cterminales libres: (rprrlhthnr)2

<400> 64

15

Arg Pro Arg Thr Arg Leu His Thr His Arg Asn Arg Arg Pro Arg Thr
1 5 10 15

Arg Leu His Thr His Arg Asn Arg
20

<210> 65

<211> 12

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> D-Péptido

25

<400> 65

Arg Pro Ile Thr Arg Leu Arg Thr His Gln Asn Arg
1 5 10

30 <210> 66

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> D-Péptido

<400> 66

Pro Thr Leu His Thr His Asn Arg Arg Arg Arg Arg
1 5 10

40

<210> 67

<211> 12

<212> PRT

45 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> D-Péptido

50 <400> 67

Pro Asn His His Arg Arg Arg Arg Arg Thr Thr Leu
1 5 10

<210> 68

<211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> D-Péptido
 <400> 68
 10 Arg Arg Pro Thr Leu Arg His Thr His Asn Arg Arg
 1 5 10
 <210> 69
 15 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> D-Péptido
 <400> 69
 Arg Pro Arg Thr Arg Leu Arg Asn Arg
 1 5
 25 <210> 70
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> D-Péptido
 <400> 70
 35 Arg Pro Arg Thr Arg Leu
 1 5
 <210> 71
 <211> 12
 40 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> D-Péptido
 45 <400> 71
 Arg Pro Ile Thr Arg Leu His Thr Asp Arg Asn Arg
 1 5 10
 50 <210> 72
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 55 <220>
 <223> D-Péptido
 <400> 72
 Arg Pro Ile Thr Thr Leu Gln Thr His Gln Asn Arg
 1 5 10
 60 <210> 73

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

5 <220>
 <223> D-Péptido

<400> 73

10 Arg Pro Arg Thr Arg Leu His Thr His Arg Asn Arg
 1 5 10

<210> 740
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> D-Péptido

20 <400> 74

Arg Pro Ile Thr Arg Leu Gln Thr His Glu Gln Arg
 1 5 10

<210> 75
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> D-Péptido

30 <400> 75

Arg Pro Arg Thr Arg Leu Arg Asn Arg Arg Pro Arg Thr Arg Leu Arg Asn Arg
 1 5 10 15

35 <210> 76
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> D-Péptido

<400> 76

45 Pro Thr Leu His Thr His Asn Arg Arg Arg Arg Arg Pro Thr Leu His Thr His Asn
 Arg
 1 5 10 15
 20

Arg Arg Arg Arg
 1 5

<210> 77
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> D-Péptido

55 <400> 77

ES 2 773 125 T3

		Ser	Gly	Trp	His	Tyr	Asn	Trp	Gln	Tyr	Trp	Trp	Lys				
		1				5					10						
	<210>	78															
	<211>	20															
5	<212>	PRT															
	<213>	Secuencia artificial															
	<220>																
	<223>	D-Péptido															
10	<400>	78															
		Arg	Pro	Arg	Thr	Arg	Ser	Gly	Trp	His	Tyr	Asn	Trp	Gln	Tyr	Trp	Trp
		1				5					10					15	
		Lys	Arg	Asn	Arg												
		20															
15	<210>	79															
	<211>	20															
	<212>	PRT															
	<213>	Secuencia artificial															
20	<220>																
	<223>	D-Péptido															
	<400>	79															
		Pro	Thr	Leu	Ser	Gly	Trp	His	Tyr	Asn	Trp	Gln	Tyr	Trp	Trp	Lys	Arg
		1				5					10					15	
		Arg	Arg	Arg	Arg												
25		20															

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para el tratamiento fuera del cuerpo humano o animal (in vitro, ex vivo) de sangre, productos sanguíneos y/u órganos mediante la eliminación y/o detoxificación de oligómeros beta amiloides, caracterizado porque se usa el compuesto D-enantiomérico rprtrlhthnrnrprtrlhthnr (D3D3, SEQ ID NO:13), que se une a los oligómeros beta amiloides.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque antes del tratamiento se examina la sangre, los productos sanguíneos o los órganos en busca de oligómeros beta-amiloides.
3. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque los compuestos de la reivindicación 1 están dispuestos como moléculas de captura en un soporte sobre el que se dirige una muestra que contiene la sangre, los productos sanguíneos y/o el órgano.
4. Procedimiento según la reivindicación 3, caracterizado porque las moléculas de captura están fijadas sobre microesferas.
5. Procedimiento según la reivindicación 3, caracterizado porque las moléculas de captura están inmovilizadas sobre nanoimanes.
6. Procedimiento según la reivindicación 3, caracterizado porque las moléculas de captura están dispuestas en un sistema de diálisis.
7. Procedimiento según la reivindicación 3, caracterizado porque el portador de las moléculas de captura está hecho de un material biocompatible.
8. Procedimiento según la reivindicación 3, caracterizado porque los portadores son membranas, filtros, esponjas de filtro, microesferas, varillas, cuerdas, columnas y fibras huecas.
9. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque se usa un kit para la cuantificación selectiva de agregados A-beta y/o para el tratamiento (in vitro) de sangre, productos sanguíneos y/u órganos que contiene uno o varios de los siguientes componentes:
 - sustrato de vidrio recubierto con una sustancia hidrofóbica;
 - estándar;
 - molécula de captura;
 - sonda;
 - sustrato con molécula de captura;
 - soluciones;
 - tampón.
10. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque el compuesto de la reivindicación 1 es dirigido como moléculas de captura ex vivo sobre y/o a través de un órgano.
11. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque se detoxifican los oligómeros beta-amiloides.
12. Uso del péptido D3D3 (SEQ ID NO:13) según la reivindicación 1 ex vivo como molécula de captura para oligómeros beta amiloides.
13. Uso del péptido D3D3 (SEQ ID NO:13) según la reivindicación 1 en el tratamiento ex vivo de sangre, productos sanguíneos y/u órganos para la liberación y/o inactivación de oligómeros A β para la prevención de la transmisión de la enfermedad de Alzheimer.
14. Uso del péptido D3D3 (SEQ ID NO: 13) según la reivindicación 1 en el tratamiento ex vivo de la enfermedad de Alzheimer, Parkinson, enfermedad de Creutzfeldt Jakob (ECJ), scrapie, encefalopatía espongiforme bovina (EEB) o diabetes.

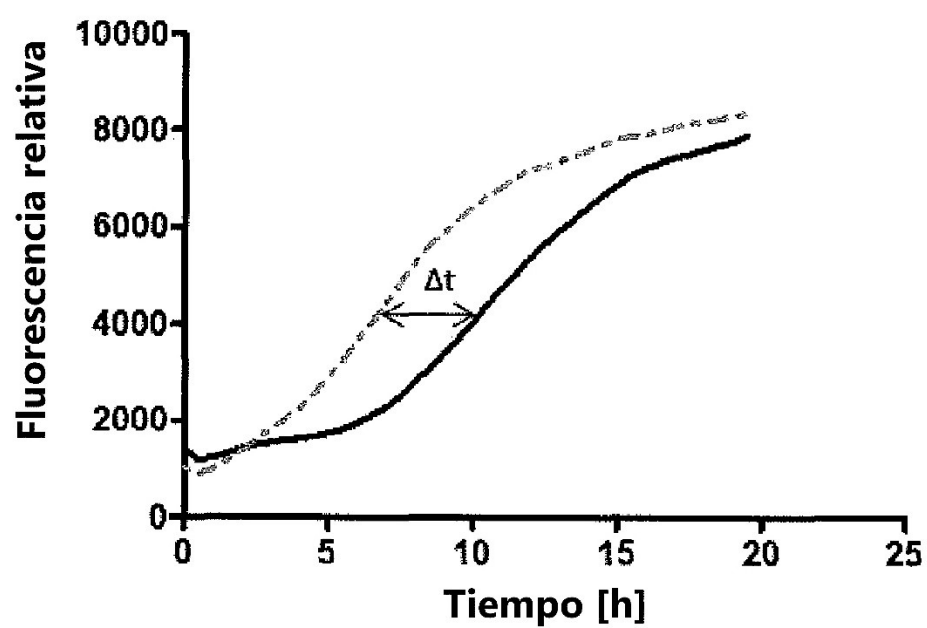


Fig. 1

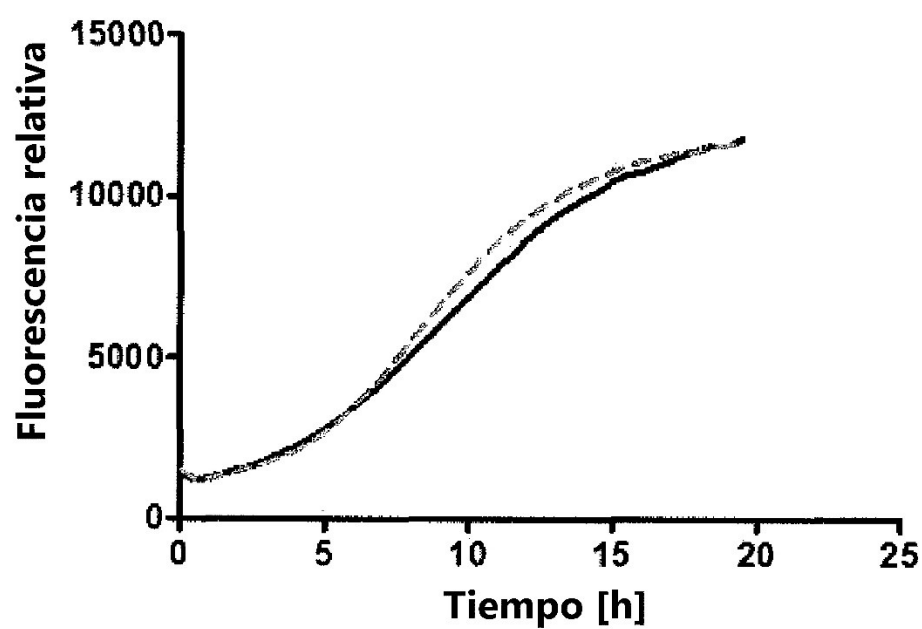


Fig. 2

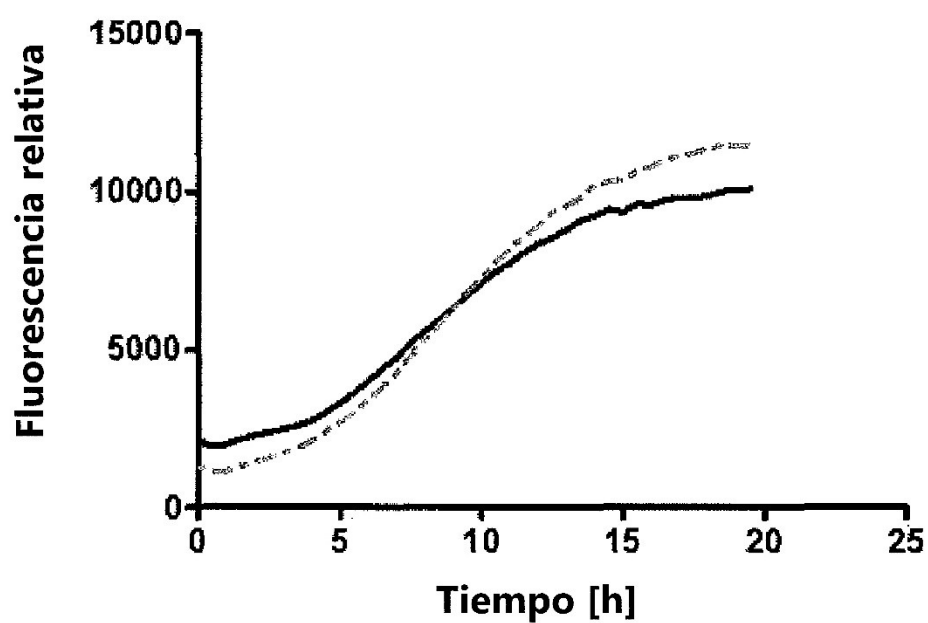


Fig. 3

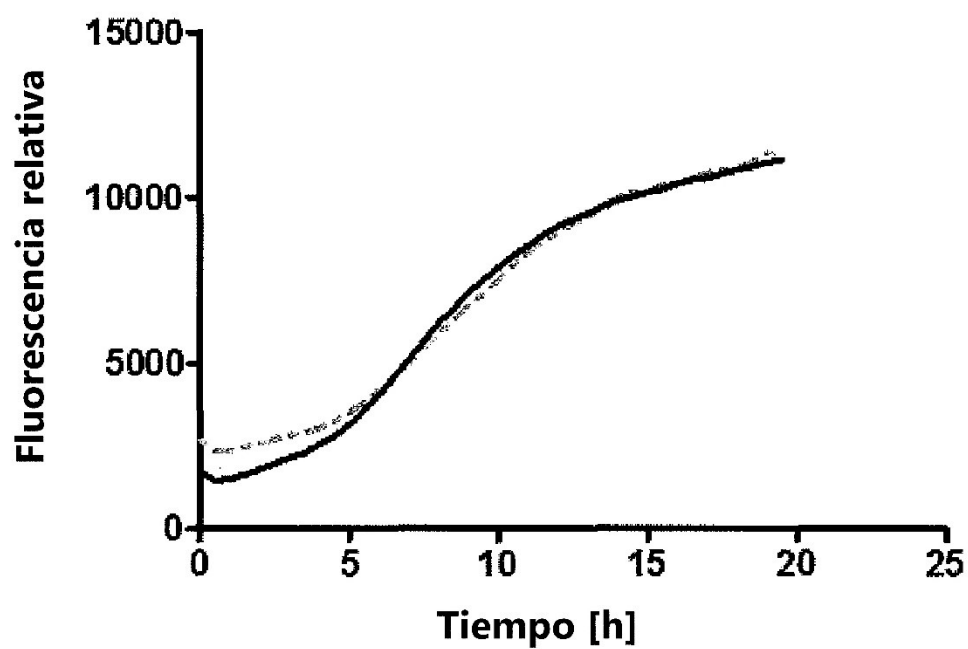


Fig. 4

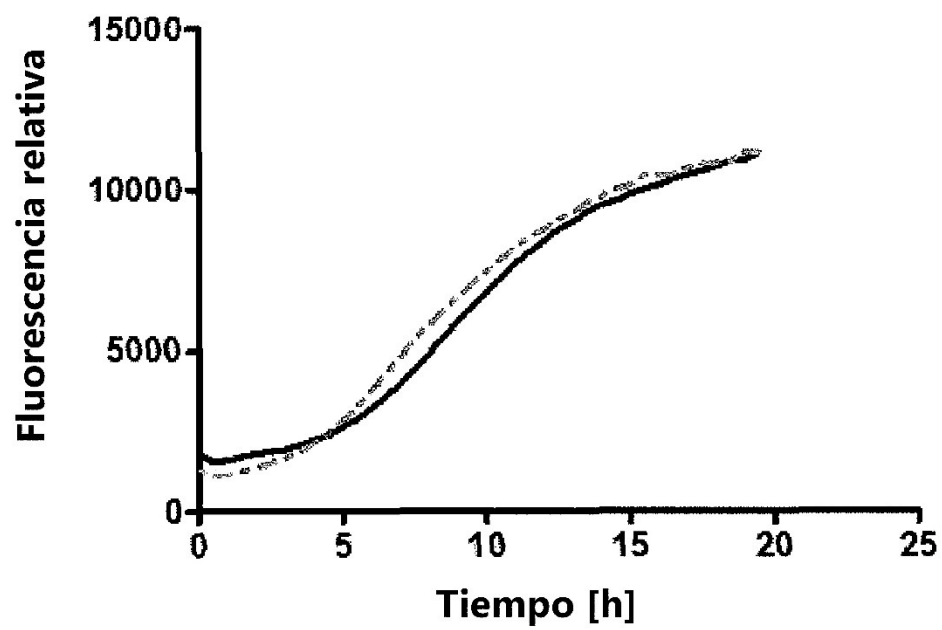


Fig. 5

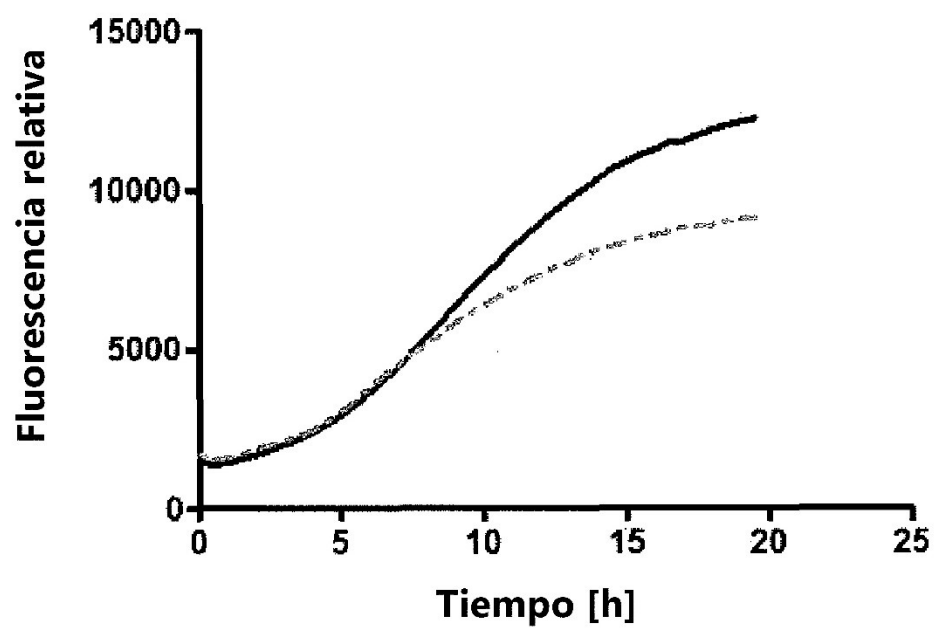


Fig. 6

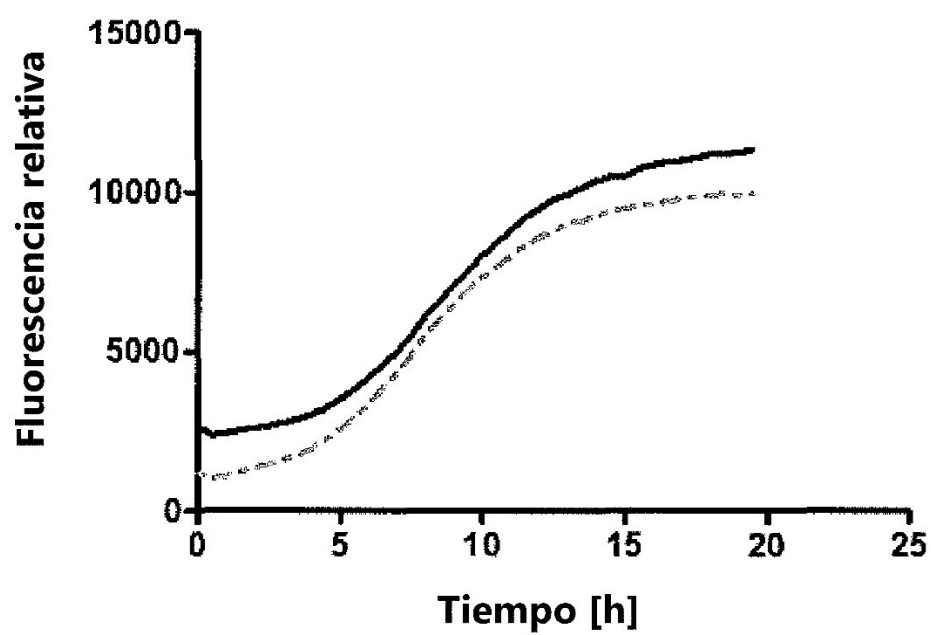


Fig. 7